

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO
ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA**

**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEDICINA
(CARDIOLOGIA)**

FLÁVIO ANDRÉ SILVA

**EFEITOS DO EXERCÍCIO RESISTIDO PRÉVIO AO
INFARTO DO MIOCÁRDIO SOBRE A FUNÇÃO
CARDÍACA DE RATAS**

Dissertação de mestrado apresentada
à Universidade Federal de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências pelo Programa de Pós-
Graduação em Medicina-Cardiologia.

São Paulo
Novembro 2019

FLÁVIO ANDRÉ SILVA

**EFEITOS DO EXERCÍCIO RESISTIDO PRÉVIO AO
INFARTO DO MIOCÁRDIO SOBRE A FUNÇÃO
CARDÍACA DE RATAS**

Dissertação de mestrado apresentada
à Universidade Federal de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências pelo Programa de Pós-
Graduação em Medicina-Cardiologia.

São Paulo

Novembro 2019

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Antonio Rubino de Azevedo,
Campus São Paulo da Universidade Federal de São Paulo, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

André Silva, Flávio

EFEITOS DO EXERCÍCIO RESISTIDO PRÉVIO AO INFARTO DO
MIOCÁRDIO SOBRE A FUNÇÃO CARDÍACA DE RATAS / Flávio
André Silva. - São Paulo, 2019.
XI, 56f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Paulo, Escola
Paulista de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Programa de Pós
Graduação em Cardiologia.

Título em inglês: EFFECTS OF RESISTANCE EXERCISE
PREVIOUSLY TO MYOCARDIAL INFARCTION IN RAT CARDIAC
FUNCTION

1. Exercício resistido . 2. Infarto do miocárdio . 3. Função cardíaca . 4.
Biologia molecular . 5. Ratos.

DEDICATÓRIA

A Deus o maior cientista e meu principal orientador

Aos meus pais (Luzia e Raimundo) que me ensinaram sobre ética, valores e princípios, fazendo mais uso das ações do que das palavras e aos meus irmãos pelo apoio incondicional

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus pela vida, saúde, cuidado e sabedoria para a produção dessa dissertação.

Agradeço aos meus pais (Luzia e Raimundo) e irmãos (Carlos, Cleiziane e Fabiane) pelas orações e apoio.

Ao professor Leslie Andrews Portes, quem primeiramente me conduziu à pesquisa e apresentou o Laboratório de Fisiologia Cardíaca da Universidade Federal de São Paulo e ao impressionante mundo da ciência, integrando a cardiologia ao exercício. Seu caráter, princípios e valores como pessoa, professor e pesquisador são qualidades que têm contribuído profundamente em minha formação acadêmica. Obrigado!

Sou muito grato ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo Tucci, porque ao longo desses anos, suas orientações, conselhos e ensinamentos, não resultaram apenas na elaboração dessa dissertação, mas também em meu crescimento como pesquisador e pessoa. Sua seriedade, responsabilidade e ética têm me influenciado além dos muros da ciência.

Ao Ednei Luiz Antonio, que desde minha chegada ao laboratório, se mostrou muito acolhedor, amigo, sábio e paciente. Sua maestria com os experimentos é impressionante, você deixa a ciência bela como a arte. A seriedade do seu trabalho e suas demais contribuições, abrilhantaram essa dissertação.

Ao Prof. Dr. Andrey Jorge Serra que sempre me incentivou, apoiou e me desafiou pensar além dos conceitos básicos do treinamento físico relacionado a cardiologia.

Aos amigos, Luís Felipe Neves dos Santos e Helenita Antonia de Oliveira, pelo companheirismo e apoio incondicional. Trabalhar ao lado de vocês foi engrandecedor, além dos momentos de diálogos e descontrações.

Aos demais queridos colegas do laboratório, Amanda Yoshizaki, Fabíola Martin, Marcos Koiti, Ighor Azevedo, Larissa Seibt, Jairo Montemor, Brunno Lemes, Stella Sousa, Eduardo Santana, Eduardo Veiga, Alexandra Santos e Bárbara Mansano, pelas dicas, sugestões e contribuições direta ou indireta neste trabalho.

Ao Carlos Eduardo (Kadu), secretário da Cardiologia da UNIFESP-SP, pela atenção, dedicação e agilidade em todos os momentos em que lhe procurei.

Aos professores, Gisela Arsa da Cunha, Alessandra Medeiros, Leonardo dos Santos e Katashi Okoshi, por aceitarem participar como examinadores deste trabalho. As sugestões, críticas e correções serão enriquecedoras e de grande contribuição.

À CAPES, CNPQ e FAPESP pelo apoio financeiro para a realização dessa dissertação.

RESUMO

Introdução: Há evidência de que a cardioproteção adquirida pelo treinamento aeróbio prévio ao infarto do miocárdio (IM) possa abrandar seus efeitos deletérios. Todavia, as propriedades cardioprotetoras do exercício resistido (ER) em ratos infartados foram pouco investigadas. **Objetivo:** Avaliar os efeitos do ER prévio ao infarto do miocárdio (IM) sobre a morfologia cardíaca, função cardíaca e proteínas que participam da cinética do cálcio, associando-os à função muscular e aptidão cardiorrespiratória de ratas. **Material e métodos:** Ratas Wistar foram distribuídas nos seguintes grupos: SSh: sedentárias previamente à falsa cirurgia (Sham) (n=9); SIM: sedentárias previamente ao IM (n=19); TIM: treinadas previamente ao IM (n=13). O programa de exercício consistiu de quatro séries de 8 a 12 movimentos transportando pesos correspondentes à 80% da carga máxima (CM g), cinco dias por semana, por oito semanas em escada adaptada para roedores. Ao final da oitava semana os animais foram submetidos à cirurgia de IM ou Sham, e analisados quatro semanas depois. $p < 0,05$ foi considerando como significativo do ponto de vista estatístico. **Resultados:** As ratas do grupo TIM apresentaram menores tamanhos de IM (TIM: $43 \pm 6,3$ vs. SIM: $55 \pm 8,2\%$) e da cicatriz (TIM: $1,2 \pm 0,21$ cm e SIM: $1,6 \pm 0,28$). A mortalidade não foi diferente entre os grupos (SIM: 37% e TIM: 39%). O ER prévio atenuou o aumento da massa dos átrios (mg/mm) (SSh: $1,1 \pm 0,1$ SIM: $3,8 \pm 0,7$; TIM: $2,7 \pm 0,6$), ventrículo direito (mg/mm) (SSh: $4,5 \pm 0,5$; SIM: $8,5 \pm 2,5$; TIM: $6,2 \pm 1,0$) e coração (mg/mm) (SSh: 22 ± 1 ; SIM: 29 ± 4 ; TIM: 26 ± 2) em relação as ratas do grupo SIM. Não houve diferença na massa do ventrículo esquerdo (mg/mm) (SSh: $16,2 \pm 0,7$, SIM: $16,2 \pm 1,5$; TIM: $16,9 \pm 0,8$). O ER prévio atenuou o aumento da área do átrio esquerdo (cm^2) (SSh: $0,37 \pm 0,03$; SIM: $0,66 \pm 0,09$; TIM: $0,52 \pm 0,13$), da Onda E (m/s) (SSh: $0,86 \pm 0,09$; SIM: $1,1 \pm 0,13$; TIM: $0,97 \pm 0,16$) e da razão E/A (SSh: $2,9 \pm 0,8$; SIM: $5,9 \pm 1,7$; TIM: $4,3 \pm 1,8$) em relação as ratas do grupo SIM. O teor de água pulmonar (SSh: $79,8 \pm 0,27\%$; SIM: $80,71 \pm 1,7$; TIM: $82,01 \pm 2,1$) e hepático (SSh: $70,56 \pm 0,1\%$; SIM: $70,34 \pm 0,9$; TIM: $71,37 \pm 0,7$) foi superior no grupo TIM. O ER abrandou o declínio da massa do músculo esquelético (SSh: $0,12 \pm 0,01\text{g}$; SIM: $0,13 \pm 0,01$; TIM: $0,15 \pm 0,04$) em relação as demais grupos. A CM do TIM ($1,8 \pm 0,2$) e SSh ($1,8 \pm 0,2$) foi superior às do SIM ($1,4 \pm 0,11$). O $\text{VO}_{2\text{pico}}$ (ml/kg/min) (SSh: 58 ± 6 ; SIM: 51 ± 10 ; TIM: 52 ± 6) e velocidade máxima ($V_{\text{máx}}$ cm/s) (SSh: 85 ± 12 ; SIM: 51 ± 10 ; TIM: 52 ± 6) foram inferiores nos infartados. A expressão proteica (%Sham) do trocador sódio cálcio (NCX) (SSh: 100 ± 32 ; SIM: 102 ± 29 ; TIM: 123 ± 39) e fosfolambam total (PLB t) (SSh: 100 ± 20 ; SIM: 86 ± 8 ; TIM: 86 ± 17) não foram diferentes entre os grupos. A expressão (%Sham) da Ca^{2+} -ATPase (SERCA2a) (SSh: 100 ± 13 ; SIM: 65 ± 17 ; TIM: $62 \pm 14,43$) e a fosfolambam fosforilada (PLBf) (SSh: 100 ± 32 ; SIM: 66 ± 34 ; TIM: 58 ± 23) foram inferiores nos infartados. **Conclusão:** O ER realizado previamente ao infarto minimizou o tamanho do IM, aliviou a piora do esvaziamento atrial esquerdo, atenuou a hipertrofia miocárdica e conferiu aumento da massa muscular associado a melhor desempenho de força à musculatura esquelética.

ABSTRACT

There is evidence that aerobic exercise prior to myocardial infarction (MI) is capable of generating cardioprotection. However, the cardioprotective properties of resistance exercise (RE) in infarcted rats have been little investigated. **Objective:** To evaluate the effects of RE prior to myocardial infarction (MI) on cardiac morphology, cardiac function, and proteins that participate in calcium kinetics, associating them with muscle function and cardiorespiratory fitness in female rats.

Methods: Wistar rats were distributed into the following groups: SSh: sedentary prior to false surgery (Sham) (n=9); SIM: sedentary prior to MI (n=19); TIM: previously trained to IM (n=13). The exercise program consisted of four sets of 8 to 12 movements carrying weights corresponding to 80% of the maximum load (CM g) five days a week for eight weeks on a rodent-adapted ladder. At the end of the eighth week, the animals underwent MI or sham surgery and were analysed four weeks later. $p < 0,05$ was considered to be statistically significant. **Results:** The TIM group rats presented smaller MI (TIM: $43 \pm 6,3\%$ e SIM: $55 \pm 8,2$) and the scar of MI (TIM: $1.2 \pm 0,21\text{cm}$ e SIM: $1.6 \pm 0,28$). Mortality showed no statistical difference (SIM: 37% e TIM: 39). Previous ER mitigated atrial mass increase (mg/mm) (SSh: $1,1 \pm 0,1$ SIM: $3,8 \pm 0,7$; TIM: $2,7 \pm 0,6$), right ventricle (mg/mm) (SSh: $4,5 \pm 0,5$; SIM: $8,5 \pm 2,5$; TIM: $6,2 \pm 1,0$) and heart (mg/mm) (SSh: 22 ± 1 ; SIM: 29 ± 4 ; TIM: 26 ± 2) compared to the rats of the SIM group. Left ventricular weight (mg/mm) was similar between groups (SSh: $16,2 \pm 0,7$, SIM: $16,2 \pm 1,5$; TIM: $16,9 \pm 0,8$). The previous RE attenuated the enlargement of the left atrium area (cm^2) (SSh: $0,37 \pm 0,03$; SIM: $0,66 \pm 0,09$; TIM: $0,52 \pm 0,13$), wave E (m/s) (SSh: $0,86 \pm 0,09$; SIM: $1,1 \pm 0,13$; TIM: $0,97 \pm 0,16$) and E/A ratio (SSh: $2,9 \pm 0,8$; SIM: $5,9 \pm 1,7$; TIM: $4,3 \pm 1,8$) compared to the rats of the SIM group. The pulmonary water content (SSh: $79,8 \pm 0,27\%$; SIM: $80,71 \pm 1,7$; TIM: $82,01 \pm 2,1$) and hepatic (SSh: $70,56 \pm 0,1\%$; SIM: $70,34 \pm 0,9$; TIM: $71,37 \pm 0,7$) was superior in TIM. RE slowed down skeletal muscle mass decline (SSh: $0,12 \pm 0,01\text{g}$; SIM: $0,13 \pm 0,01$; TIM: $0,15 \pm 0,04$). The $\text{VO}_{2\text{pico}}$ (ml/kg/min) (SSh: 58 ± 6 ; SIM: 51 ± 10 ; TIM: 52 ± 6) and maximum speed ($V_{\text{máx}}$ cm/s) (SSh: 85 ± 12 ; SIM: 51 ± 10 ; TIM: 52 ± 6) were inferior in the infarcted. The protein expression (%Sham) of calcium sodium exchanger (NCX) (SSh: 100 ± 32 ; SIM: 102 ± 29 ; TIM: 123 ± 39) and total phospholamban (tPLB) (SSh: 100 ± 20 ; SIM: 86 ± 8 ; TIM: 86 ± 17) were not different between groups. The protein expression (%Sham) of SERCA2a (SSh: 100 ± 13 ; SIM: 65 ± 17 ; TIM: $62 \pm 14,43$) and phosphorylated phospholamban (pPLB) (SSh: 100 ± 32 ; SIM: 66 ± 34 ; TIM: 58 ± 23) were lower in infarcted animals. **Conclusion:** The RE performed prior to myocardial infarction minimized the size of the MI, alleviated left atrial dissection, attenuated myocardial hypertrophy, and increased muscle mass associated with better strength performance of the skeletal muscles.

SUMÁRIO

Dedicatória.....	
Agradecimentos.....	
Resumo.....	
Abstract.....	
Lista de figuras.....	
Lista de abreviaturas.....	
1. Introdução.....	01
2. Objetivos.....	05
2.1. Objetivo específico.....	05
2.2. Objetivos secundários.....	05
3. Métodos.....	05
3.1. Animais utilizados.....	05
3.2. Protocolo de exercício resistido.....	06
3.3. Determinação do consumo de oxigênio (VO_2 pico)	08
3.4. Infarto do miocárdio.....	10
3.5. Ecodopplercardiograma.....	11
3.6. Dados biométricos.....	13
3.7. Western blotting.....	14
3.8. Análise estatística.....	15
4. Resultados.....	16
4.1. Peso corporal.....	16
4.2. Tamanho do infarto.....	16
4.3. Mortalidade.....	17
4.4. Biometria cardíaca.....	18
4.5. Função cardíaca.....	19
4.6. Teor de água pulmonar e hepático.....	23
4.7. Massa muscular esquelética.....	24
4.8. Aptidão musculoesquelética.....	24
4.9. Aptidão física cardiorrespiratória.....	26
4.10. Western blotting.....	27
5. Discussão.....	29
6. Conclusão.....	40
7. Referência.....	41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Desenho experimental do estudo, onde são apresentados os testes iniciais, o protocolo de sedentarismo/treinamento, testes finais e coleta de material biológico.....	06
Figura 2: Escada inclinada para roedores. Painel A: visão lateral e dimensões da escada; painel B: visão frontal e sequência da adaptação dos animais; painel C: protocolo da subida com a carga.....	06
Figura 3: Painel A: Tubo Falcon adaptado com haste fixa na sua extremidade superior; painel B: fita autoadesiva; painel C: pesos de chumbo com diversos pesos para cargas.....	08
Figura 4: Peso corporal verificados no início, oitava e décima segunda semana de protocolo.....	16
Figura 5: Avaliação do tamanho. A) Tamanho do IM (%) e B) Cicatriz do IM (cm).....	17
Figura 6: Valores das massas dos átrios (A); ventrículo direito (B); ventrículo esquerdo (C) e coração (D) na décima segunda semana do protocolo.....	19
Figura 7: Variáveis Ecocardiográficas da área do AE (A) e da onda E (B), onda A (C) e a razão E/A (D) verificados na oitava e décima segunda semanas do protocolo.....	21
Figura 8: Variáveis Ecocardiográficas das áreas diastólica (A) e sistólica (B) do ventrículo esquerdo, do tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV) (C) e da fração de encurtamento da área transversa (FEAT) (D) verificados na oitava e décima segunda semanas do protocolo.....	23
Figura 9: O teor de água dos órgãos pulmão (A) e fígado (B) verificados na décima segunda semana do protocolo.....	24
Figura 10: Valores da massa dos músculos extensores digital longo (EDL) ao final da décima segunda semana de protocolo.....	24
Figura 11: Desempenho no teste de carga máxima para avaliação da aptidão musculoesquelética.....	25
Figura 12: Valores percentuais das proteínas relacionadas à cinética do cálcio: (A) NCX; (B) SERCA2a; (C) PLB total; (D) PLB fosforilada.....	27

LISTA DE ABREVIATURAS

IF - Inatividade Física

DCV - Doenças cardiovasculares

IM - Infarto do miocárdio

IC - Insuficiência cardíaca

EF - Exercício físico

EA - Exercício aeróbio

ER - Exercício resistido

VE - Ventrículo esquerdo

SERCA2a - ATPase do retículo sarcoplasmático

I/R - Isquemia e reperfusão

CEDEME - Centro de desenvolvimento de modelos experimentais

CEUA - Comitê de Ética no Uso de Animais

Sham – Cirurgia simulada

SSh - Sedentário Sham

SIM - Sedentário infarto

TIM - Treinado infarto

VO₂ pico - Consumo de oxigênio pico

O₂ - Oxigênio

CO₂ - gás carbônico

N₂ - nitrogênio

ACDA - Artéria coronária descendente anterior

ECO - Ecodopplercardiograma

RA - Regiões acinéticas

PE - Perímetro endocárdio

FEAT - Fração de encurtamento da área transversa

ATd - Área transversa em diástole

ATs - Área transversa em sístole

TRIV - O tempo de relaxamento isovolumétrico

PC - Peso corporal

EDL - Extensor longo dos dedos

NCX - Trocador sódio-cálcio

PLBt - Fosfolambam total

CIM - Cicatriz do infarto

VD - Ventrículo direito

AE - Átrio esquerdo

V_{máx} - Velocidade máxima

Pd2 - Pressão diastólica final

FE - Fração de ejeção

ICC - insuficiência cardíaca congestiva

RS - Retículo endoplasmático

1. INTRODUÇÃO

As elevadas taxas de inatividade física observadas na população mundial (Dumith et al., 2011; Guthold et al., 2018) são preocupantes, visto sua íntima relação com as doenças cardiovasculares (DCV) (Booth et al., 2012; Lastett et al., 2012; McAloom et al., 2016; Roth et al., 2017). Estima-se que a inatividade seja responsável por aproximadamente 6% das coronariopatias (Lee et al., 2012), sendo o infarto do miocárdio (IM) o protagonista mais frequente (Lastett et al., 2012; Roth et al., 2017), impondo elevadas taxas de morbidade e mortalidade (WHO, 2019). Seguindo-se à oclusão coronária, o remodelamento cardíaco que se estabelece acarreta alterações em nível molecular, celular, intersticial e gênica (Cohn et al., 2000).

Apesar da complexidade da fisiopatologia do remodelamento ventricular, alguns processos ao longo do curso da cardiopatia são bem conhecidos. Observa-se hipertrofia e dilatação ventricular (Pfeffer et al., 1987; Pfeffer et al., 1991; Wisloff et al., 2002; Waard et al., 2009; Saraiva et al., 2007; Mackiewicz et al., 2009; Chen et al., 2013; Polegato et al., 2016; Yu et al., 2019), deterioração da contração e relaxamento (Wisloff et al., 2002; Waar et al., 2009; Portes et al., 2009; Bocalini et al., 2012; Chen et al., 2013) que culminam em prejuízos na ejeção cardíaca (Francis et al., 2001; Wisloff et al., 2002; Barboza et al., 2016; Barboza et al., 2013; Yu et al., 2019) e aumento da congestão pulmonar (Waard et al., 2009; Francis et al., 2001; Mackiewicz et al., 2009; Yu et al., 2019). Também é comum, nessas circunstâncias, serem observadas alterações nas proteínas relacionadas à cinética de cálcio (Wisloff et al., 2002; Mackiewicz et al., 2009; Bocalini et al., 2012; Melo et al., 2015). Esses eventos, somados à redução da aptidão cardiorrespiratória (Wisloff et al., 2002; Barboza et al., 2013;),

edema pulmonar (Portes et al., 2009) e aos prejuízos musculares esqueléticos (Barboza et al., 2013;), revelam quadro fisiopatológico característico de insuficiência cardíaca (IC).

A realização de exercícios físicos é incentivada (ACSM., 2011; Arnett et al., 2019) por promover benefícios que se contrapõem aos efeitos danosos da inatividade física sobre o coração. Esses efeitos são descritos como cardioproteção induzida pelo exercício (Frasier et al., 2011; Scott et al., 2014; Alleman et al., 2015;). A ação cardioprotetora induzida por exercício promove redução dos fatores de riscos que predispõem à DCV e adaptações cardíacas benéficas. Os efeitos cardioprotetores dos exercícios aeróbicos estão bem documentados (Dayan et al., 2005; Freimann et al., 2005; de Waard e Duncker DJ; 2009; Bozi et al., 2013; Rodrigues et al., 2014; Santos et al., 2016). Porém, a eficácia cardioprotetora do exercício resistido (ER) carecem de esclarecimentos.

As evidências existentes é a de que o ER se mostrou eficiente em reduzir os fatores de riscos e mortalidade por DCV (Tanasescu et al., 2002, Arnarson et al., 2014; Drenowatz et al., 2015; de Sousa et al., 2017; Shiroma et al., 2017; Dai et al., 2019; Liu et al., 2019; Jang et al., 2019). Menciona-se também, que níveis elevados de força muscular foram associados a risco reduzido de mortalidade por DCV (Silventoinen et al., 2009) e mortalidade por todas as causas (García-Hermoso et al., 2018).

Santoro et al. (2014) evidenciaram hipertrofia do ventrículo esquerdo (VE), que se associou ao aumento da espessura do septo interventricular e da parede posterior entre indivíduos altamente treinados em ER. Os autores também observaram encurtamento ventricular aprimorado nos indivíduos treinados.

Apesar desse relato, não é incomum encontrar ausência de efeito cardíaco do ER. Essa proposta é apoiada por estudos em indivíduos altamente treinados em ER (Haykowsky et al., 1998; Haykowsky et al., 2000a; Adler et al., 2008), bem como em programas de treinamento a curto prazo (Haykowsky et al., 2000b; Naylor et al., 2008).

Ausência de influência foi observada quando se analisaram os volumes ventriculares sistólico e diastólico durante o repouso entre indivíduos altamente treinados e sedentários (Adler et al., 2008). Todavia, durante o esforço, essas variáveis foram maiores nos indivíduos treinados (Adler et al., 2008). Em relação à função diastólica, há relatos de melhora (Adler et al., 2008) ou ausência de efeito (Santoro et al., 2014) entre indivíduos treinados. Santoro et al. (2014) relataram ausência de efeito do ER na função cardíaca sistólica.

A pesquisa experimental tem possibilitado maior compreensão dos efeitos do ER. Assim, além dos benefícios musculares esqueléticos, como aumento da força, massa e resistência muscular (Baraúna et al., 2005; Barauma et al., 2007; Duncan et al., 1998; Melo et al., 2015; Phillipe et al., 2015; Pinter et al., 2008; Sanchez et al., 2014; De Souza et al., 2014; Zanchi et al., 2010) já foram relatados resultados bastante satisfatórios em corações de ratos saudáveis. Nestes animais, a hipertrofia do VE observada com o ER (Duncan et al., 1998; Barauna et al., 2005, Barauna et al., 2007; Barauna et al., 2008; De Souza et al., 2014), associou-se a aumento do diâmetro e do volume dos cardiomiócitos (Melo et al., 2015) e redução do diâmetro interno do VE (De Souza et al., 2014). Esta situação pode restringir a dilatação da cavidade observada no infarto do miocárdio. Pinter et al. (2008) relataram aprimoramento da tensão desenvolvida e da responsividade ao cálcio extracelular de músculos papilares. Melo et al.

(2015) descreveram redução do tempo para 50% do relaxamento e do tempo para o pico de contração de cardiomiócitos, esses resultados se associaram a aumento na expressão da proteína cálcio-ATPase do retículo sarcoplasmático (SERCA2a).

Entre os efeitos hemodinâmicos, os autores citam redução das pressões arteriais sistólica (Pinter et al., 2008) e diastólica (Barauna et al., 2005). Já com relação aos efeitos cardioprotetores do ER, são poucos os trabalhos que avaliaram as propriedades cardioprotetoras do ER em ratos infartados. Doustar et al. (2012) não verificaram efeito protetor de quatro semanas de ER realizado previamente à lesão cardíaca induzida por isquemia e reperfusão (I/R). Contrariando essa informação, Soufi et al. (2011) relataram que doze semanas são suficientes para atenuar os prejuízos cardíacos da I/R.

O efeito do ER como estratégia preventiva também foi investigado pelo grupo de Barboza et al. (2016). Estes autores analisaram as modificações que se estabelecem 24 horas após oclusão coronária, em ratos submetidos, previamente, a oito semanas de exercício resistido. Nesse estudo, o treinamento prévio preveniu comprometimento da capacidade aeróbia, do desempenho muscular esquelético e reduziu a taxa de mortalidade, porém falhou em atenuar o tamanho do infarto e a disfunção ventricular.

Tendo em vista os benefícios supracitados promovidos pelo ER, nosso objetivo é avaliar as alterações cardíacas, cardiorrespiratórias e muscular esquelética que se manifestam na fase tardia do IM em ratas que realizaram ER prévio.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral: avaliar os efeitos do ER previamente ao IM sobre a morfologia e função cardíaca de ratas, associando as proteínas que participam da cinética do cálcio;

2.2. Objetivos secundários: analisar as repercussões do ER sobre a função da musculatura esquelética e aptidão cardiorrespiratória

3. MÉTODOS

3.1. Animais utilizados

Foram utilizadas ratas jovens (*Rattus norvegicus albinus*, Rodentia, mammalia) com 12 semanas de vida, da linhagem Wistar-EPM, pesando entre 170 e 200 gramas, livres de doenças, provenientes do Centro de Desenvolvimento de Modelos Experimentais (CEDEME) da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da mesma instituição (processo nº. 3201050416). Os animais foram mantidos em caixas com água e ração Nuvital-Nuvilab “ad libitum” no biotério coletivo 4, Edifício de Pesquisas I da Escola Paulista de Medicina, em ambiente com temperatura controlada em torno de 22°C a 23°C, \cong 54% de umidade e ciclo claro/escuro de 12 horas. Foram mantidos não mais que quatro animais em cada caixa. A serragem, água e a ração foram trocadas três vezes por semana. Os animais foram distribuídos em três grupos: 1. Nove animais que permaneceram sedentários previamente a intervenção cirúrgica simulada da artéria coronária (Sham) (**SSh**). 2. Trinta animais que permaneceram sedentários previamente a intervenção cirúrgica para indução do IM (**SIM**). 3. Trinta e três animais que foram submetidos ao ER previamente a intervenção cirúrgica para indução do IM (**TIM**). Após as cirurgias,

os animais sobreviventes em cada grupo, **SSh** (n=9), **SIM** (n=19) e **TIM** (n=13) foram submetidos as análises propostas.



Figura 1. Desenho experimental do estudo, onde são apresentados os testes iniciais, o protocolo de treinamento/sedentarismo, testes finais e coleta de material biológico.

3.2. Protocolo de exercício resistido

O protocolo de treinamento resistido utilizado previamente ao infarto foi adaptado do estudo de Sanches et al. (2014). Consistiu de subidas em escada inclinada para roedores (1,1 x 0,18 m, 80° de inclinação e 2cm entre os degraus - Figura 2A). Esse modelo de treinamento permitiu aos animais realizarem de 8 a 12 movimentos por subida, suportando cargas afixadas na cauda.

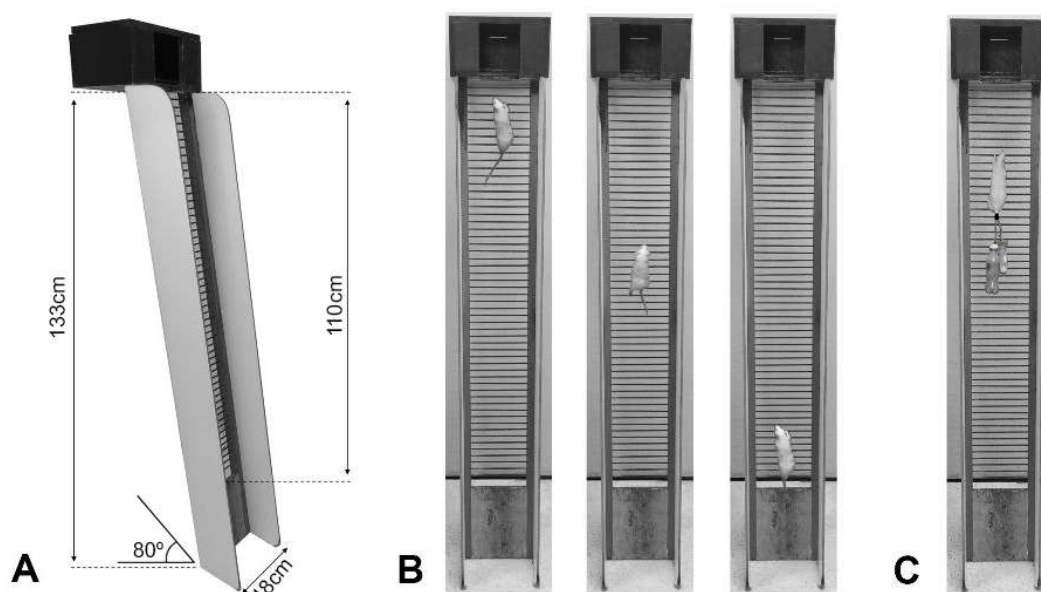


Figura 2. Painel A: dimensões da escada; painel B: sequência da adaptação dos animais; painel C: subida com a carga.

Antes da primeira sessão de treinamento, os animais passaram por duas fases: *adaptação* e *determinação da carga máxima* (CM). Na fase de adaptação os animais foram submetidos à três subidas partindo de três pontos diferentes da escada: parte superior, média e inferior - respectivamente - em direção a uma caixa escura (20 x 20 x 20cm), acoplada ao topo da escada, para repouso de dois minutos entre cada subida (Figura 2B). Os animais repetiram esse procedimento por três dias consecutivos. Para a determinação da CM, os animais foram pesados e cargas correspondentes a 75% do peso corpóreo (Figura 3C) foram inseridas em tubo falcon adaptado (Figura 3A) e presas na porção proximal da cauda por meio de fita autoadesiva (Figura 3B). Completada a subida e, após repouso de dois minutos, o procedimento foi repetido adicionando cargas correspondentes a 15% do peso corporal até que o animal não conseguisse completar a subida. A CM foi determinada como a última carga transportada pelo animal até a caixa no final da escada.

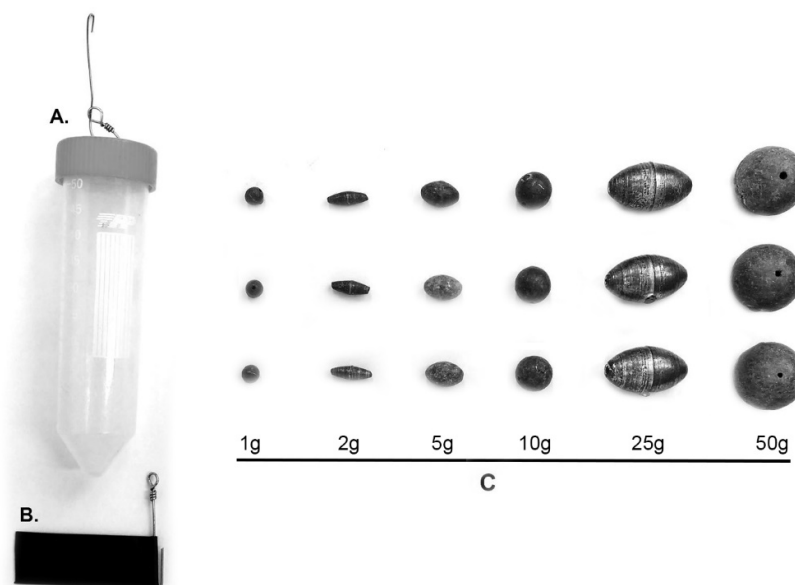


Figura 3. Painei A: Tubo Falcon adaptado com haste fixa na sua extremidade superior; painei B: fita autoadesiva; painei C: pesos de chumbo com diversos pesos para cargas.

O protocolo de treinamento consistiu em transportar cargas correspondente a 80% da CM determinada para cada animal, sendo quatro séries de subidas, dois minutos de descanso entre as séries, cinco vezes/semana, durante oito semanas. O ajuste da intensidade de treinamento, foi realizado semanalmente, sendo obtida a massa corporal de cada animal, e realizado um novo teste de CM. Os grupos sedentários (SSh e SIM) realizaram o teste CM no início, e ao final da oitava semana. Ao final das quatro semanas após os procedimentos cirúrgicos, todos os grupos foram submetidos ao último teste.

3.3. Determinação do consumo de oxigênio (VO_2 pico)

Visto que a detecção de um platô no consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx.) de ratos é difícil, utilizamos como critério para a determinação da máxima capacidade cardiorrespiratória o consumo máximo de oxigênio pico (VO_2 pico) (Kregel, 2006), expresso em $ml.kg^{-1}.min^{-1}$. O VO_2 pico foi medido em três

momentos: antes do início do protocolo, após oito semanas e ao final da quarta semana após as cirurgias.

O VO_2 pico foi analisado em esteira rolante (Panlab/Harvard-Apparatus treadmill, Harvard Bioscience Company, Massachusetts, USA) por meio de analisador de gases (Panlab/Harvard-Apparatus Oxylet System, Harvard Bioscience Company, Massachusetts, USA) equipado com sensor de O_2 diodo laser (resolução: 0,01%) e sensor de CO_2 infravermelho (resolução: 0,01%). Antes de cada teste, o sistema foi calibrado com concentrações conhecidas de oxigênio (O_2), dióxido de carbono (CO_2) e nitrogênio (N_2), como recomendado pelo fabricante.

O teste seguiu um protocolo baseado nas orientações da “American Physiological Society (Kregel, 2006) e nos estudos de Bedford et al. (1979) e Brooks e White (1978). O comprimento e a largura do tapete de corrida foram de 45 cm e 10 cm, respectivamente. A grade de choques da esteira media 19 cm de comprimento por 10 cm de largura, com 1 cm entre as hastes de metal. O sistema permitiu aumentos na velocidade de 1 cm/s e foi controlado eletronicamente, via microcomputador equipado com software do fabricante. O fluxo de ar na câmara sobre a esteira foi mantido entre 1,2 l/min e 2,0 l/min, conforme o peso do animal, segundo recomendado pelo fabricante.

Todos os animais foram submetidos ao período de três dias de familiarização ao exercício em esteira. No primeiro dia, foram 3 níveis de velocidades (25 cm/s, 34 cm/s e 42 cm/s), com duração de 5 minutos cada um. No segundo dia, foram 4 estágios de 4 minutos: 25 cm/s, 34 cm/s, 42 cm/s e 50 cm/s. No terceiro dia, começando com 25 cm/s, foram acrescentados 9 cm/s a cada 2 minutos até 84 cm/s.

Após a adaptação os animais foram submetidos ao teste máximo, realizado em protocolo contínuo e progressivo, com velocidade inicial de 25 cm/s, como divulgado por Hickson et al. (1984), Bedford et al. (1979) e Brooks e White (1978) e inclinação 0°. A cada 2 minutos acrescentou-se 9 cm/s até que o animal fosse incapaz de caminhar ou correr a despeito da estimulação elétrica (Kregel, 2006).

O primeiro minuto de cada estágio destinou-se à medida das frações inspiradas de O₂ (FiO₂) e de CO₂ (FiCO₂), e o segundo minuto à análise das frações expiradas de O₂ (FeO₂) e de CO₂ (FeCO₂). De modo geral, as amostras dos gases na caixa se estabilizavam em cerca de 30 segundos após o início das análises.

3.4. Infarto do miocárdio

A produção do IM e da cirurgia simulada (Sham), foram realizadas 48 horas após a última sessão de exercício ou sedentarismo. O método de produção do IM foi baseado no trabalho de Johns e Olson (1954) com pequenas adaptações, conforme padronização já estabelecida em nosso laboratório (Antonio et al, 2009; Portes et al, 2009; Veiga et al, 2012). Os animais foram anestesiados com mistura de cetamina (50 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg), entubados e ventilados com pressão positiva em ventilador para roedores (modelo Harvard 683 – Harvard Apparatus). Após tricotomia do hemitórax esquerdo, foi realizada toracotomia lateral no espaço intercostal em que há impacto do “ictus cordis”. O animal foi colocado na posição supina, feita incisão na pele e divulsão dos músculos peitorais e intercostais, com auxílio de tesoura curva metzenbaum. Após divulsão da musculatura intercostal, as costelas foram separadas com auxílio de pinça Kelly curva e foi colocado afastador de

Stevenson, para exposição do coração, seguida de pequena incisão no pericárdio para visualização da artéria coronária descendente anterior (ACDA). A produção do IM foi obtida por ligadura da ACDA a, aproximadamente, 2 milímetros de sua origem na aorta, por meio de fio de sutura nylon 5.0. Após serem checados os resultados da oclusão coronária, pelo fato do miocárdio tornar-se empalidecido, foi promovida hiperinsuflação pulmonar e o tórax foi fechado por meio de sutura em bolsa previamente preparada em torno das bordas da incisão. Os animais Sham foram submetidos aos mesmos procedimentos, porém não houve a oclusão da coronária. O animal foi mantido em ventilação artificial enriquecida com oxigênio até que ocorresse ventilação espontânea e, então, foi retirada a ventilação artificial. Quando a respiração se mostrou estável, o animal foi extubado e colocado em caixa com serragem, sob calor de lâmpada de tungstênio para que permanecesse aquecido durante o período pós-operatório, até que se recuperasse completamente do plano anestésico. Após a cirurgia foi administrado o analgésico opióide Tramadol, com dose recomendada de 8 mg/kg i.p. a cada 12h, por 3 dias.

Os animais foram acompanhados por quatro semanas após os procedimentos cirúrgicos e ao final, os animais portadores de grandes infartos (igual ou superior à 37% da circunferência do VE) foram submetidos às análises estabelecidas.

3.5. Ecodopplercardiograma

O ecodopplercardiograma (ECO) foi realizado em aparelho HP SONOS 5500 (Hewlett Packard), utilizando transdutor de frequência fundamental de 12 MHz, conforme descrições anteriores de nosso laboratório (Kanashiro et al., 2002, Kanashiro et al., 2006, Santos et al., 2009, dos Santos et al., 2008). Após

anestesia com cetamina (50 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg), e tricotomia da face anterior do tórax, os animais foram posicionados em decúbito lateral esquerdo. A extensão do IM foi avaliada pela medida das regiões acinéticas (RA) do VE e expressa como percentagem do perímetro endocárdico (PE) em três cortes transversais do VE (nível das bordas das cúspides da valva mitral, dos músculos papilares e da região apical):

$$\%IM = (RA / PE) 100$$

Este método foi previamente validado em nosso laboratório (dos Santos et al., 2008), comparando medidas de IM obtidas por ECO e por coloração do coração com cloreto de trifêniltetrazólio.

A função sistólica foi avaliada pela fração de encurtamento da área transversa (FEAT), que considera a percentagem de variação da secção transversa do VE. A média destas medidas em diástole (ATd) e sístole (ATs), possibilitaram a determinação da fração de encurtamento pela fórmula:

$$FEAT = (ATd - ATs / ATd) 100$$

A função diastólica foi analisada utilizando-se os índices derivados da curva de velocidade do fluxo diastólico mitral e do fluxo sistólico da via de saída do ventrículo esquerdo, obtidos pela técnica de Doppler pulsátil. Foram determinadas: a) **onda E**: maior valor da velocidade de fluxo protodiastólico do enchimento ventricular; b) **onda A**: maior valor da velocidade de fluxo telediastólico mitral; c) **relação E/A**: relação entre a velocidade máxima da onda E, e a velocidade máxima da onda A. O **tempo de relaxamento isovolumétrico** (TRIV) foi obtido determinando-se o final do fluxo sistólico na via de saída do ventrículo esquerdo e o início do fluxo diastólico mitral.

O ECO foi realizado em dois momentos: 24h após a oitava semana do protocolo, a fim de caracterizar diferenças entre os grupos na geometria e função ventricular e quatro semanas após as cirurgias, para ajuizar sobre as influências do IM. Para as análises do tamanho do IM e da cicatriz do infarto, consideramos todos os animais sobreviventes à oclusão coronária. No entanto, para as demais análises cardíacas, proteicas, metabólicas e muscular esquelética, consideramos, apenas àqueles animais portadores de infartos superiores à 37% da área do VE.

3.6. Dados biométricos

Além da determinação do peso corporal (PC g), semanalmente, nos animais do grupo TIM, para definir o valor da CM, em todos os grupos determinamos o peso corporal inicial, após aplicação do protocolo de oito semanas, e após as quatro semanas do procedimento cirúrgico. Vinte quatro horas após as avaliações finais, as ratas foram sacrificadas por decapitação. Este tipo de sacrifício é necessário pelo fato das amostras cardíacas coletadas serem usadas para análise de biologia molecular, em que a eutanásia por superdosagem anestésica poderia interferir negativamente. O coração, o pulmão direito, o fígado e o músculo esquelético extensor longo dos dedos (EDL) foram rapidamente dissecados e pesados. O conteúdo hídrico do pulmão e fígado foi obtido a partir dos seus pesos úmidos e secos. Após obtenção do peso úmido, os tecidos foram colocados em estufa de secagem e mantidos durante 72 horas à temperatura de 90°C. Obtidos os pesos secos do pulmão e do fígado, o teor de água (%H₂O) de cada órgão foi definido pela equação:

$$\%H_2O = (\text{peso úmido} - \text{peso seco} / \text{peso úmido}) \times 100\%$$

3.7. Western blotting

Amostras do ventrículo esquerdo (~ 50 mg) foram incubadas em 500 µL de tampão de lise SDS (Tris-HCl 0,05 M; SDS 0,5%; DTT 1mM; pH 8.0), contendo coquetel de inibidores de protease e fosfatase (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA). A mistura foi centrifugada a 1500 xg por 10 min e o sobrenadante foi coletado. Realizada dosagem da quantidade de proteína total pelo método de Bradford, cerca de 20 µg de proteínas foram submetidas à eletroforese em gel de SDS-poliacrilamida (12%, BioRad gel, EUA). Após separação, as proteínas foram transferidas para membrana de nitrocelulose (Hybond-P, Amersham Biosciences; Piscataway, NJ, EUA) e a eficiência da transferência e a igualdade da carga de proteínas foram apuradas com Ponceau S. As membranas foram bloqueadas em TBST (Tris-base 50mM; NaCl 1,5M; Tween 20 0,1%; pH 7.4) contendo leite em pó desnatado (5%). As proteínas transferidas foram incubadas a 4°C (*overnight*) com anticorpo primário, Ca²⁺-ATPase (SERCA2a; 1:2000, Badrilla A010-20), trocador sódio-cálcio (NCX1; 1:2000, Abcam, 177952) fosfolamban total (PLBt, 1: 1000, Badrilla, A010-14), fosfolamban fosforilada na Ser16/Thr17 (1:1000, Abcam, 62170). Em seguida, as membranas foram lavadas 5 vezes (5 min cada lavagem) em TBST e, então, incubadas por 60 min em T.A. com anticorpo secundário anti-coelho (diluição de 1:2000; Cell Signaling). A seguir, as membranas foram novamente lavadas com TBST (5 vezes; 5 min cada lavagem) e expostas a reagente de quimiluminescência ECL (Biorad, Hercules, CA, EUA). A expressão proteica foi corrigida pelo controle interno GAPDH (1:4000; Cell Signaling). Marcadores de peso molecular (Biorad) foram usados para identificar as proteínas. A expressão proteica foi determinada após digitalização das membranas em

fotodocumentador (Amersham Images 600, GE, Alemanha) e a densidade óptica das proteínas foi analisada com o software próprio do aparelho.

3.8. Análise estatística

Todos os dados foram analisados por meio do GraphPad Prism 6.0, para Windows (www.graphpad.com), e os resultados foram apresentados com médias \pm desvios-padrão. Utilizou-se da ANOVA two-way para medidas repetidas, assumindo-se dois fatores: **grupo** (SSh, SIM e TIM) e **tempo** (Início, 8ª semana de treinamento/sedentarismo e após o IM, 12ª semana), para as variáveis de massa corporal, CM e teste cardiorrespiratório. Para as variáveis ECO os fatores na ANOVA two-way foram **grupo** e **tempo** (8ª e 12ª semanas). Adicionalmente, os dados de biometria e de biologia molecular foram analisados pela ANOVA one-way. Em todos os casos o teste *pos-hoc* aplicado foi o de Tukey. Quando $p < 0,05$ admitiu-se diferenças estatisticamente significantes.

4. RESULTADOS

4.1. Peso corporal

Os resultados verificados para o peso corporal (PC, expresso em gramas) estão ilustrados na figura 4. O peso corporal não diferiu entre os grupos no início do estudo (SSh: 231 ± 13 ; SIM: 234 ± 23 e TIM: 236 ± 17). Nos três grupos houve aumento dos pesos dos animais na oitava (SSh: 244 ± 12 , SIM: 270 ± 17 , TIM: 248 ± 15) e na décima segunda semana (SSh: 256 ± 10 , SIM: 287 ± 19 , TIM: 265 ± 22). Na oitava e na décima segunda semanas, o PC dos animais de SIM foram superiores aos dois outros grupos.

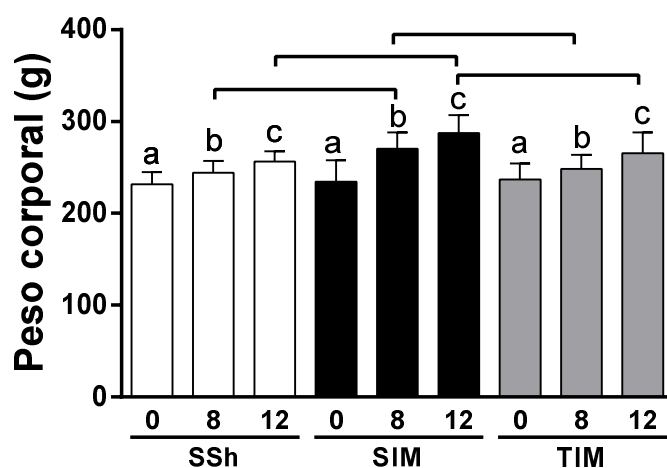


Figura 4: SSh, sedentário cirurgia simulada (n=9), SIM, sedentário infarto do miocárdio (n=8) e TIM, treinamento infarto do miocárdio (n=13). 0, início, 8, final da oitava semana, 12, final da décima segunda semana. Letras diferentes representam diferenças no grupo, $p < 0,05$. As diferenças significantes entre os grupos são representadas pelos colchetes.

4.2. Tamanho do infarto

As ratas que permaneceram vivas, após o período de observação de quatro semanas, foram submetidas à avaliação do tamanho percentual do IM (Painel A)

e os valores absolutos, em centímetros, das cicatrizes (Painel B) do IM (CIM) por meio do ECO (Figura 5). Três ratas do grupo TIM exibiram IM inferior a 37%, ao passo que nas ratas do grupo SIM não houve relato. O tamanho do IM no grupo das sedentárias foi superior ($55 \pm 8,2\%$) ao das ratas que treinaram previamente ($43 \pm 6,3\%$). Na avaliação da CIM, foi observado o mesmo comportamento, a maior, para a CIM nos animais sedentários ($1.6 \pm 0,28$) em relação às do grupo ER ($1.2 \pm 0,21$).

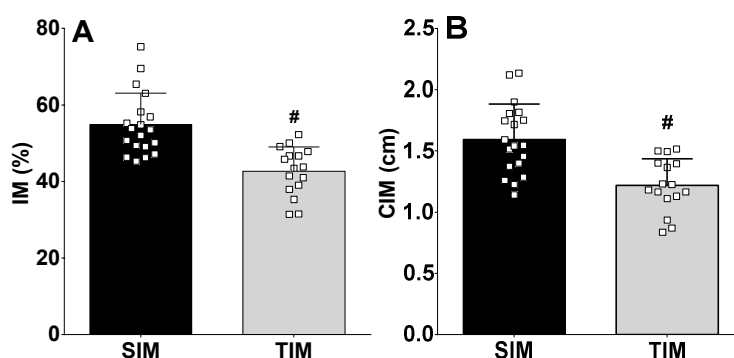


Figura 5: A) Tamanho do IM (%) e B) Cicatriz do IM (cm) analisados ao final da décima segunda semana. Sedentário infarto (**SIM**), n=19; Treinamento infarto (**TIM**), n=16. Valores expressos como médias \pm dp. # $p < 0,05$: **TIM** vs **SIM**.

4.3. Mortalidade

Nenhuma morte foi registrada durante o período de treinamento ou sedentarismo. Não houve mortalidades durante as cirurgias. Após as cirurgias, as ratas foram realocadas em suas caixas e a mortalidade acompanhada. A taxa de mortalidade nas primeiras 48 horas após o IM foi de 37% no grupo SIM e de 39% no grupo TIM, diferença não significativa. Nenhuma rata do grupo SSh morreu durante o período de acompanhamento. No decorrer das quatro semanas finais de acompanhamento, não houve mortalidade.

4.4. Biometria cardíaca

A massa cardíaca foi analisada como indicador de hipertrofia miocárdica. Os valores são indexados pelo comprimento da tíbia (mg/mm). A figura 6, painel A, ilustra os resultados da massa dos átrios. A massa atrial dos grupos infartados (SIM: $3,8 \pm 0,7$ e TIM: $2,7 \pm 0,6$) apresentou-se maior do que no grupo SSh ($1,1 \pm 0,1$) na semana 12, sendo ~3,5 vezes maior no grupo SIM, enquanto no grupo TIM foi somente ~2,5 vezes maior, a qual foi menor do que no grupo SIM. Comportamento semelhante foi observado na massa do ventrículo direito (VD) (A figura 6B). A massa do VD nos animais infartados (SIM: $8,5 \pm 2,5$ e TIM: $6,2 \pm 1,0$) apresentou-se maior do que o SSh ($4,5 \pm 0,5$). Sendo ~2 vezes superior no grupo SIM, enquanto no grupo TIM foi somente ~1 vez, a qual foi menor do que no grupo SIM.

A figura 6, painel C ilustra os resultados da massa VE. Nessa análise, não houve diferença na massa do VE entre os grupos (SSh: $16,2 \pm 0,7$, SIM: $16,2 \pm 1,5$ e TIM: $16,9 \pm 0,8$). Os valores da massa do coração são ilustrados na figura 6, painel D. Influenciado pela massa dos átrios e VD, a massa do coração dos grupos infartados (SIM: 29 ± 4 e TIM: 26 ± 2) apresentou-se maior do que no grupo SSh (22 ± 1) na semana 12, a massa do coração no grupo TIM foi menor do que no grupo SIM.

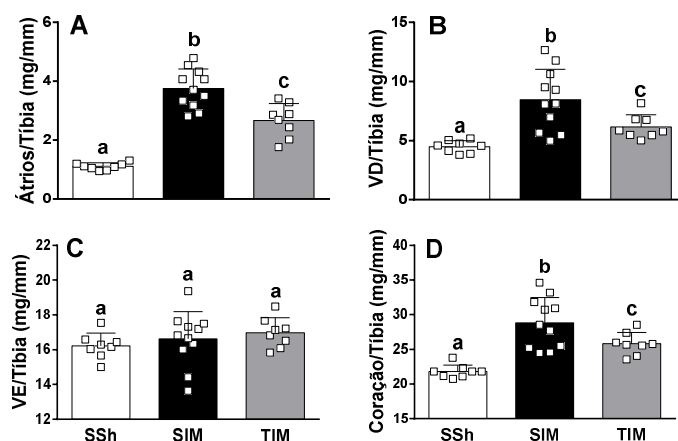


Figura 6: **A:** átrios; **B:** VD, ventrículo direito; **C:** VE, ventrículo esquerdo e **D:** coração, analisados ao final da décima segunda semana. Valores indexados aos valores da tíbia. **SSh:** sedentário cirurgia simulada (n=8); **SIM:** sedentário infarto (n=11); **TIM:** treinamento infarto (n=8). Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significantes entre os grupos. $p < 0,05$.

4.5. Função cardíaca

A área (cm^2) do átrio esquerdo (AE) pode ser visualizada na figura 7A. Não houve diferenças entre os grupos na semana oito (SSh: $0,33 \pm 0,05$; SIM: $0,35 \pm 0,04$ e TIM: $0,31 \pm 0,04$). A área do AE do grupo SSh ($0,37 \pm 0,03$) na semana 12 não foi diferente da semana oito. No entanto, os grupos infartados exibiram aumento significativo da área do AE da oitava para a semana 12 (SIM: $0,66 \pm 0,09$ e TIM: $0,52 \pm 0,13$), o que resultou em áreas AE significativamente maiores do que o grupo SSh. A área AE do grupo TIM foi menor do que no grupo SIM.

A Figura 7B ilustra os resultados verificados para a onda E (m/s). Não houve diferenças entre os grupos na semana oito (SSh: $0,88 \pm 0,13$; SIM: $0,88 \pm 0,14$; e TIM: $0,88 \pm 0,14$). A onda E do grupo SSh ($0,86 \pm 0,09$) na semana 12 não foi diferente da semana oito. Comportamento semelhante ocorreu para o grupo TIM (8: $0,88 \pm 0,14$ e 12: $0,97 \pm 0,16$). No entanto, no grupo SIM, os valores da semana 12 ($1,1 \pm 0,13$) foram superiores àqueles obtidos na semana 8. Na semana 12, os valores de SIM ($1,1 \pm 0,13$) foram mais elevados do que os de SSh ($0,86 \pm 0,09$) e TIM ($0,97 \pm 0,16$).

A figura 7C ilustra os resultados verificados para a onda A (m/s). Não houve diferença entre os grupos na semana oito (SSh: $0,40 \pm 0,09$; SIM: $0,42 \pm 0,12$ e TIM: $0,41 \pm 0,08$). A onda A dos animais do grupo SSh na semana 12 ($0,31 \pm 0,09$) não foi diferente daquele verificado na semana 8. Nos animais infartados, houve redução da onda A na semana 12 (SIM: $0,19 \pm 0,04$ e TIM: $0,25 \pm 0,09$) em relação à semana 8. Nas comparações dos dados dos três grupos, verificados na semana 12, ficaram caracterizados menores valores para o grupo SIM em relação, apenas ao SSh.

Os resultados para a razão E/A estão ilustrados na figura 7D. Não foram observadas diferenças entre os grupos na semana oito (SSh: $2,5 \pm 0,5$; SIM: $2,2 \pm 0,6$ e TIM: $2,21 \pm 0,47$). No grupo SSh este valor não foi diferente daquele verificado na semana 12 ($2,9 \pm 0,8$). No grupo SIM, o valor verificado na semana 12 ($5,9 \pm 1,7$) foi superior àquele obtido na semana 8. Comportamento semelhante foi observado no grupo TIM entre o valor da semana oito ($2,2 \pm 0,4$) e 12 ($4,3 \pm 1,8$). Na semana 12, ficaram caracterizadas maiores valores para os grupos SIM ($5,9 \pm 1,7$) e TIM ($4,3 \pm 1,8$) em relação ao grupo SSh ($2,9 \pm 0,8$). Os valores do grupo TIM foram menores aos do grupo SIM.

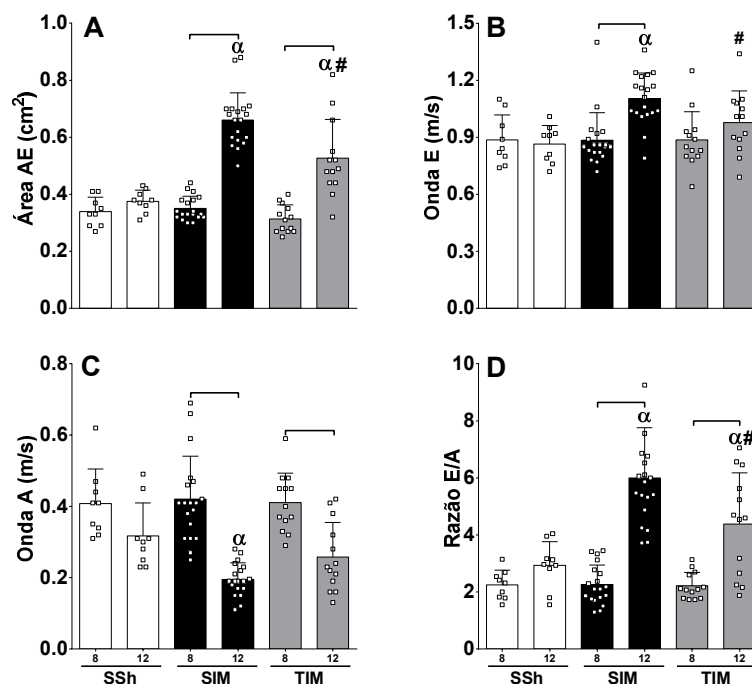


Figura 7: Valores ($\bar{x} \pm dp$) verificados para a área do AE e das ondas E, A e a razão E/A nos grupos analisados ao final da semana oito e doze: **SSh**, sedentário cirurgia simulada (n=9), **SIM**, sedentário IM (n=19) e **TIM**, treinamento IM (n=13). As diferenças significativas dentro do grupo são representadas pelos colchetes, $p < 0,05$. $^{\alpha}p < 0,05$ vs 12SSh e $^{\#}p < 0,05$ vs 12SIM.

A figura 8A ilustra os resultados verificados para a área diastólica (cm^2).

Não houve diferenças entre os grupos em relação a área diastólica na semana oito (SSh: $0,36 \pm 0,05$; SIM: $0,36 \pm 0,06$ e TIM: $0,34 \pm 0,07$). Na semana 12, ficou evidenciado preservação destes valores no grupo SSh ($0,38 \pm 0,07$) e aumento nos animais infartados (SIM: $0,68 \pm 0,07$ e TIM: $0,68 \pm 0,06$) em relação a semana oito. Os valores de SIM e TIM foram diferentes do grupo SSh. Não houve diferença entre os valores de SIM e TIM ao final da semana 12.

O painel B da figura 8 ilustra os valores das áreas sistólicas do ventrículo esquerdo. Na semana oito, não houve diferença entre os grupos (SSh: $0,07 \pm 0,02$; SIM: $0,10 \pm 0,02$ e TIM: $0,09 \pm 0,02$). Nos animais dos três grupos os valores verificados na semana 12 (SSh: $0,13 \pm 0,02$, SIM: $0,45 \pm 0,06$ e TIM: $0,42 \pm 0,04$) foram superiores aos da semana oito. Nas comparações verificadas

na semana 12, ficou configurada diferença para os valores dos animais infartados (SIM: $0,45 \pm 0,06$ e TIM: $0,42 \pm 0,04$) em relação ao SSh ($0,13 \pm 0,02$). Não houve diferença entre os valores de SIM e TIM.

A figura 8, painel C, ilustra os resultados para o TRIV (ms). Não houve diferença entre os grupos na semana oito (SSh: $24,2 \pm 4,6$; SIM: $23,5 \pm 3,9$ e TIM: $22,5 \pm 3,8$). Na semana 12, os valores do grupo SSh ($24,56 \pm 4,1$) não foram diferentes da semana oito. Nos animais infartados (SIM: $19,1 \pm 3,4$ e TIM: $19,7 \pm 6,9$) os valores do TRIV da semana 12 foram inferiores aos da semana 8. Nas comparações dos dados dos três grupos na semana 12, ficaram caracterizadas menores valores para os animais infartados (SIM: $19,1 \pm 3,4$ e TIM: $19,7 \pm 6,9$) em relação ao grupo SSh ($24,56 \pm 4,1$). Não houve diferença entre os valores de SIM e TIM.

A figura 8, painel D, ilustra os resultados para a FEAT (%). Na semana 8, os valores de SIM (71 ± 6) e TIM (71 ± 7) foram menores em relação aos animais do grupo SSh (79 ± 8). Nos animais do grupo SSh, os valores da semana oito foram superiores aos da semana 12 (65 ± 4). Nos animais infartados (SIM: 35 ± 6 e TIM: 38 ± 8) houve redução da FEAT na 12 semana em relação a semana oito. Nos dados dos três grupos verificados na semana 12, ficaram caracterizadas reduções para os valores de SIM (35 ± 6) e TIM (38 ± 8) em relação ao grupo SSh (65 ± 4). Não houve diferença entre os valores de SIM e TIM.

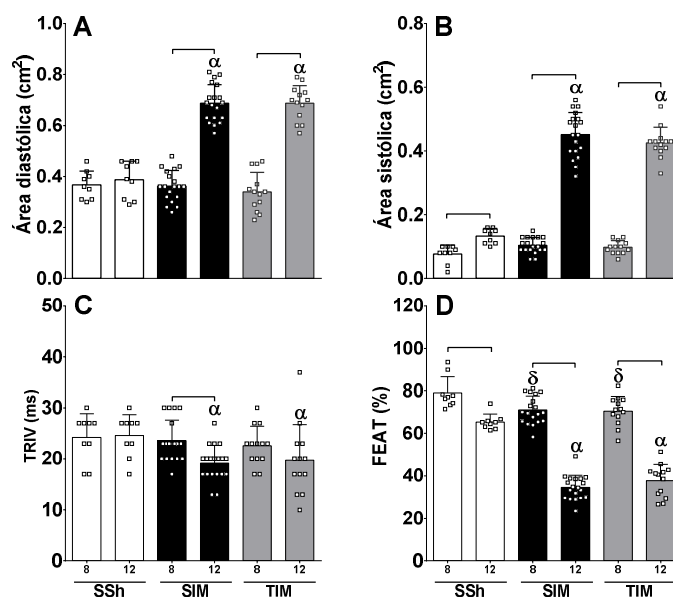


Figura 8: Valores ($x \pm dp$) das áreas diastólica e sistólica do ventrículo esquerdo, tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV) e da fração de encurtamento da área transversa (FEAT) nos grupos analisados ao final da semana oito e doze. **SSh**, sedentário cirurgia simulada ($n=9$), **SIM**, sedentário infarto miocárdio ($n=19$) e **TIM**, treinamento infarto miocárdio ($n=13$). As diferenças significativas dentro do grupo são representadas pelos colchetes. $^{\delta}p < 0,05$ vs 8SSh e $^{\alpha}p < 0,05$ vs 12SSh.

4.6. Teor de água pulmonar e hepático

O teor de água dos órgãos pulmão (%) e fígado (%) foram usados para se caracterizar a presença de congestão pulmonar ou hepática e foram verificados na semana 12. A e 9B ilustram e hepático, respectivamente. Não foi relatado diferença no teor de água do pulmão (figura 9A) (SSh: $79,8 \pm 0,27$; SIM: $80,71 \pm 1,7$; TIM: $82,01 \pm 2,1$) e fígado (figura 9B) (SSh: $70,56 \pm 0,1$; SIM: $70,34 \pm 0,9$; TIM: $71,37 \pm 0,7$) entre os animais sedentários. Mas ficou evidenciada elevação dos valores do grupo TIM em relação aos dos dois outros grupos. Comportamento semelhante – sem diferença foi notada entre os animais do grupo SSh ($70,56 \pm 0,1$) e os do grupo SIM ($70,34 \pm 0,9$) para os valores da água do fígado figura 9B. Nesta análise, ficou evidenciada diferença para os valores do grupo TIM ($71,37 \pm 0,7$) em relação aos dois grupos.

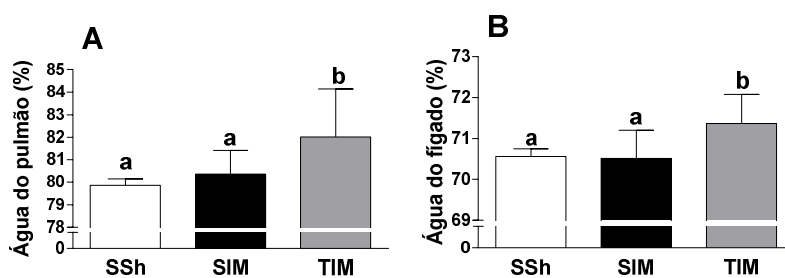


Figura 9: A: Teor de água do pulmão (%) e B: fígado (%), analisados ao final da décima segunda semana. **SSh**: sedentário cirurgia simulada (n=8); **SIM**: sedentário infarto (n=19); **TIM**: treinamento infarto (n=13). Letras diferentes significam diferenças entre os grupos, $p < 0,05$.

4.7. Massa muscular esquelética

A figura 10 ilustra massa do músculo EDL (g). Ficaram evidenciadas, nas comparações dos dados dos três grupos, diferenças para os valores dos animais do grupo TIM ($0,15 \pm 0,04$) em relação aos animais dos grupos SSh ($0,12 \pm 0,01$) e SIM ($0,13 \pm 0,01$), que não foram diferentes entre si.

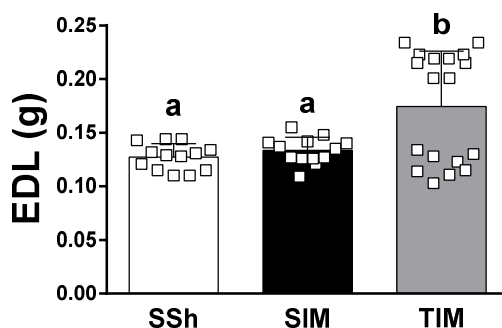


Figura 10: Massa dos músculos extensor digital longo (EDL), analisados ao final da décima segunda semana. **SSh**: sedentário cirurgia simulada (n= 8); **SIM**: sedentário infarto (n= 8); **TIM**: treinamento infarto (n=13). Letras diferentes significam diferenças estatisticamente significantes entre os grupos. $p < 0,05$.

4.8. Aptidão musculoesquelética

O teste de CM, estabelecido como a máxima carga transportada até o topo da escada, foi realizado a fim de avaliar a aptidão musculoesquelética. A

figura 11 ilustra os resultados verificados para a CM relativos ao PC (g/g) ao longo do protocolo. Não houve diferença entre os grupos em relação a CM no início do estudo (SSh: $1,2 \pm 0,1$; SIM: $1,2 \pm 0,2$ e TIM: $1,4 \pm 0,1$). Nas comparações dos dados de cada grupo, não foi observado aumento da CM no grupo SSh entre o início ($1,2 \pm 0,1$) e a oitava semana ($1,6 \pm 0,1$), bem como da semana oito a decima segunda semana ($1,8 \pm 0,2$), contudo houve diferença entre a avaliação no início do protocolo ($1,2 \pm 0,1$) e a semana 12 ($1,8 \pm 0,2$). Nos animais do grupo SIM estes valores não apresentaram diferenças em nenhuma das avaliações (início: $1,2 \pm 0,2$; 8s: $1,4 \pm 0,2$ e 12s: $1,4 \pm 0,1$). Ficaram caracterizadas diferenças, a maior, para os valores de TIM em relação ao início ($1,4 \pm 0,16$) e a semana 8 ($3,1 \pm 0,2$). Todavia, houve piora no valor da CM entre a oitava semana e a semana 12, isto é, após o IM ($1,8 \pm 0,25$). As cargas máximas dos animais do grupo TIM na semana 12 não apresentaram valores superiores em relação ao início do protocolo.

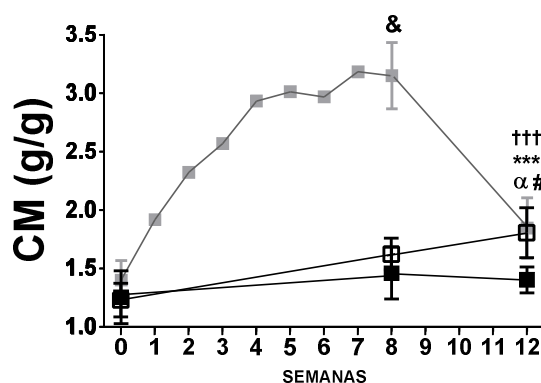


Figura 11: CM, carga máxima (g/g) indexada ao peso corporal. Sedentário cirurgia simulada, **SSh** (□), sedentário IM, **SIM** (■) e treinamento IM, **TIM** (■). *** $p < 0,001$: no **SSh**: 12 > 0. ††† $p < 0,001$: no **TIM**: 8 > 12. & $p < 0,001$: **TIM** vs **SSh/SIM**. α $p < 0,05$: **SSh** vs **SIM**, # $p < 0,05$: **TIM** vs **SIM**. Valores expressos como médias \pm DP.

Nas comparações dos dados entre os grupos verificados na semana 8, a CM dos animais do grupo SSh ($1,6 \pm 0,1$) e SIM ($1,4 \pm 0,2$) foram menores que o TIM ($3,1 \pm 0,2$). Quando os dados da semana 12 foram comparados, foi percebido

maiores valores na CM dos animais dos grupos SSh ($1,8 \pm 0,2$) e TIM ($1,8 \pm 0,2$) em relação aos animais do grupo SIM ($1,4 \pm 0,11$).

4.9. Aptidão física cardiorrespiratória

A aptidão cardiorrespiratória (VO_{2pico} , ml/kg/min) e velocidade máxima em esteira ($V_{m\acute{a}x}$, cm/s) estão descritos abaixo. Não houve diferença entre os grupos na avaliação do VO_{2pico} no início do estudo (SSh: 59 ± 7 , SIM: 65 ± 8 e TIM: 65 ± 6). A comparação do VO_{2pico} realizada em cada grupo ao longo do estudo, revelou que o SSh piorou, do início (59 ± 7) à semana 8 (49 ± 5) e melhorou da oitava semana para a semana 12 (58 ± 6). Nos animais do grupo SIM não foi observado diferença entre o início (65 ± 8) e a semana 8 (66 ± 6), mas ficou caracterizada redução do VO_{2pico} na semana 12 (51 ± 10) em relação as avaliações anteriores. Comportamento semelhante foi observado para o VO_{2pico} dos animais do grupo TIM, os valores verificados ao longo do protocolo não foram diferentes entre o início (65 ± 6) e a semana 8 (66 ± 4), com piora na avaliação realizada na semana 12 (52 ± 6). Na comparação dos dados entre os grupos, na semana 8, os animais do grupo SSh (49 ± 5) apresentaram diferenças, a menor, em relação ao SIM (66 ± 6) e TIM (66 ± 4). Os valores verificados na semana 12 revelaram que os animais infartados, (SIM: 51 ± 10 e TIM: 52 ± 6) não apresentaram diferença entre si. Todavia, seus valores apresentaram piora do VO_{2pico} em relação aos animais do grupo SSh (58 ± 6).

A $V_{m\acute{a}x}$ não diferiu entre os grupos (SSh: 87 ± 7 , SIM: 88 ± 12 e TIM: 94 ± 14). A $V_{m\acute{a}x}$ do grupo SSh piorou do início (87 ± 7) à semana 8 (77 ± 7); o aumento exibido na semana 12 (85 ± 12) não assumiu significância estatística. Nos animais infartados, os valores não diferiram entre o início (SIM: 88 ± 12 e TIM: 94 ± 14) e a

semana 8 (SIM: 87 ± 6 e TIM: 93 ± 9), todavia, pioraram na semana 12 (SIM: 70 ± 15 e TIM: 79 ± 11) em relação às avaliações anteriores.

Nas comparações entre os três grupos, a $V_{m\acute{a}x}$ do grupo SSh (77 ± 7) na oitava semana foram inferiores aos do grupo SIM (87 ± 6) e TIM (93 ± 9). Na semana 12, após a cirurgia de infarto ou simulação, foi verificado que os ratos infartados apresentam redução $V_{m\acute{a}x}$ (SIM: 70 ± 16 e TIM: 79 ± 12) comparado ao grupo SSh (85 ± 12). Entre os grupos de ratas infartadas (SIM e TIM) nenhuma diferença foi observada na $V_{m\acute{a}x}$.

4.10. Western blotting

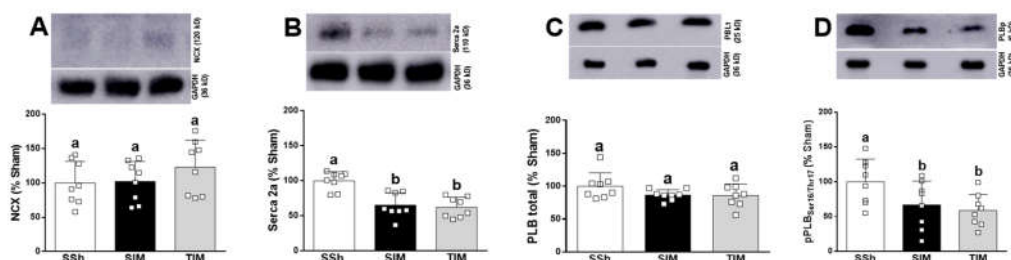


Figura 12: Percentual das proteínas relacionadas à cinética do Ca^{2+} do VE analisados ao final da décima segunda semana. **SSh:** sedentário cirurgia simulada ($n=8$); **SIM:** sedentário infarto; **TIM** ($n=8$): treinamento infarto ($n=8$). Letras diferentes significam diferenças significantes entre os grupos. Média \pm desvio padrão, $p < 0,05$.

Ao final do protocolo, amostras do VE foram coletadas e analisadas as expressões das proteínas relacionadas à cinética do Ca^{2+} . A figura 12A, ilustra os resultados referentes ao NCX. Nessa análise, não houve diferença entre os três grupos (SSh: $100 \pm 31,6$; SIM: $102 \pm 29,2$; TIM: $123 \pm 39,4$). Quando analisada a expressão de SERCA2a (Fig. 12B), evidenciamos diferenças entre as ratas do grupo SIM ($68,3 \pm 17,5$) e TIM ($62,2 \pm 14,4$) em relação as ratas do grupo SSh (100 ± 13). Não houve diferença entre as ratas dos grupos SIM e TIM.

A figura 12, painel C, ilustra os valores referentes a PLB total. Nessa análise, os valores cursaram sem diferença estatística entre os valores dos três

grupos (SSh: $100 \pm 20,3$; SIM: $86,6 \pm 8$; TIM: $86 \pm 17,5$). Todavia, nos animais infartados (SIM: $66,8 \pm 34$ e TIM: $58,8 \pm 23,4$) os valores da PLB fosforilada (Fig. 12D), foram inferiores àqueles observados nas ratas do grupo SSh ($100 \pm 32,5$). Não houve diferença entre os valores dos grupos SIM e TIM.

5. DISCUSSÃO

Nossos esforços foram direcionados no sentido de estudar o efeito cardioprotetor do ER prévio ao IM em ratas. Os achados que destacamos foram que o ER, realizado com 80% da CM, 5 vezes por semana, durante 8 semanas, foi acompanhado de menores cicatrizes do IM, abrandou o aumento da área e da massa do AE, aliviou o deságue atrial esquerdo, minimizou a hipertrofia cardíaca e atenuou o declínio na aptidão músculo esquelética.

O peso corpóreo dos animais dos três grupos foram semelhantes no início do protocolo. Os três grupos ganharam peso no decorrer do protocolo, sendo o acréscimo de peso das ratas do grupo SIM maior do que o dos demais. Resultado similar foi registrado no trabalho de Barboza et al. (2016). Destaque-se o menor peso corpóreo das ratas do grupo TIM em relação às do grupo SIM, apesar do aumento da massa muscular nas ratas exercitadas.

Ao final da quarta semana de cirurgia, realizou-se o último exame ecocardiográfico a fim de ajuizar os efeitos do IM sobre o coração das ratas. Ao comparar o tamanho do IM entre ratas sedentárias e as treinadas previamente, seguiu-se as sugestões de Serra e Tucci (2016). Os autores relatam que, ao considerar a expansão ou redução da cicatriz do IM, a avaliação não deve se valer, apenas, dos valores relativos em relação ao perímetro do ventrículo esquerdo, mas também pelos valores absolutos da cicatriz do IM, visto que, em alguns casos, o valor percentual do IM não difere, enquanto o comprimento da cicatriz sofre alteração.

No presente estudo, ficou evidenciado que as ratas treinadas previamente exibiram valores menores tanto da cicatriz do IM quanto do percentual do IM. Uma possível explicação para esse resultado é que o miocárdio dos animais

treinados apresentasse maior densidade de volume capilar, devido ao mecanismo de angiogênese como demonstrado por De Souza et al. (2014) ao submeter ratos saudáveis a oito semanas de ER. Devido a maior vascularização, o miocárdio teria maior perfusão sanguínea, o protegendo diante da oclusão coronária. Anteriormente, apenas Barboza et al. (2016) avaliaram o efeito do ER sobre a cicatriz do IM. Estes autores referem que – nas avaliações realizadas 48 após oclusão coronária – o ER não afetou o tamanho do IM expresso como percentagem do diâmetro ventricular. Soufi et al. (2011) e Doustar et al. (2012) avaliaram as repercussões do ER, realizado previamente à isquemia, no tamanho percentual do IM após oclusão coronária (40 minutos) seguida de reperfusão (80 minutos). Estes autores se valeram, respectivamente, de 12 e de 4 semanas de treino com ER. Soufi et al. (2011) referiram redução do tamanho do IM após ER, ao passo que Doustar et al. (2012) não a identificaram.

Em roedores, evidências têm mostrado que o exercício aeróbio prévio é capaz de atenuar a taxa de mortalidade após o IM (Dayan et al., 2005; de Waard et al., 2009; Rodrigues et al., 2014). Neste aspecto, o efeito do ER é menos documentado.

No presente estudo, a atenuação do tamanho do IM nas ratas submetidas a oito semanas de ER não se traduziu em menor taxa de mortalidade quando comparado com as ratas previamente sedentárias e portadoras de infartos maiores. No melhor de nosso conhecimento, identificamos na literatura apenas um estudo que acompanhou a mortalidade de animais submetidos ao ER previamente ao IM. No estudo de Barboza et al. (2016) os autores observaram menor mortalidade entre os ratos submetidos a oito semanas de ER prévio, em relação aos sedentários, apesar de não haver diferença nos tamanhos dos

infartos. Estes autores relataram redução do perfil inflamatório e atenuação da hiperatividade simpática, situações que poderiam explicar menor mortalidade. Há relatos na literatura da associação entre exercício resistido e mortalidade por DCV. No estudo de Saeidifard et al. (2019), os autores realizaram revisão sistemática e meta-análise, avaliando a associação entre ER e mortalidade por DCV e por todas as causas. Os autores encontraram redução de 21% na mortalidade por todas as causas entre aqueles que praticavam ER, mas os autores não evidenciaram associação nas análises que confrontaram ER e mortes causadas por DCV. Em humanos, os benefícios do ER sobre a mortalidade por DCV, têm sido relacionados, principalmente, à sua capacidade em reduzir os fatores de risco cardíaco e não aos seus efeitos sobre as propriedades intrínsecas do coração. (Tanasescu et al., 2002; Kamada et al., 2017; Liu et al., 2019; McLeod et al., 2019).

Em relação aos efeitos do ER prévio sobre massa cardíaca, nossos dados revelaram que o aumento da massa dos átrios, VD e coração foram atenuadas nas ratas do grupo TIM. Não houve diferenças entre os grupos no que diz respeito à massa do VE. Os benefícios do ER em atenuar a hipertrofia atrial concordam com os achados funcionais e morfológicos do presente estudo, que evidenciaram área do AE menor, onda E e razão E/A atenuadas.

Nós identificamos apenas um trabalho que analisou a variável massa cardíaca em animais que realizaram ER previamente ao IM. Vinte e quatro horas após o IM, Barboza et al. (2016) encontraram massa do VE, analisada por ECO, maior nos ratos treinados previamente em relação aos sedentários. A hipertrofia miocárdica induzida pelo ER, já foi demonstrada em outros estudos em animais

saudáveis (Duncan et al., 1998; Barauna et al., 2005, Barauna et al., 2007; Barauna et al., 2008 e de Souza et al., 2014).

A observação que o exercício pode induzir adaptação cardíaca capaz de conferir proteção diante de um insulto patológico é pouco estudado utilizando o ER. Em nosso estudo, o exame ecocardiográfico realizado ao final da oitava semana de protocolo – antes do IM – não detectou alterações cardíacas morfológicas e funcionais consideráveis impostas pelo ER, em relação aos demais grupos. Esses achados contrariam resultados prévios da literatura, em que foi observado hipertrofia do VE de 12% (Duncan et al., 1998; Barauna et al., 2005, Barauna et al., 2007; Barauna et al., 2008) a 35% (de Souza et al., 2014) e atenuação da dilatação do VE em comparação ao exercício aeróbico (de Souza et al., 2014). Essa adaptação, porém, não é obrigatória com a prática dos exercícios resistivos. Apesar dos indicadores de hipertrofia cardíaca serem superiores em ratos após 12 semanas de treinamento, Barauna et al. (2007) relataram que a função cardíaca dos animais não foi alterada. Em humanos, Spence et al. (2011) não observaram remodelamento ventricular após seis meses de ER em jovens saudáveis e as medidas cursaram sem alteração significativa após seis semanas de destreino. Santoro et al. (2014) evidenciaram hipertrofia do VE, que se associou a aumento da espessura do septo interventricular e da parede posterior, entre indivíduos altamente treinados. Os autores também observaram encurtamento ventricular aprimorado nos treinados. Apesar desse relato, não é incomum encontrar ausência de efeito cardíaco do ER. Essa proposta é apoiada por estudos em indivíduos altamente treinados (Haykowsky et al., 1998; Haykowsky et al., 2000a; Adle et al., 2008), bem como em programas de treinamento a curto prazo (Haykowsky et al., 2000b;

Naylor et al., 2008). Em mulheres altamente treinadas, não foi detectada diferença na estrutura cardíaca em relação a mulheres sedentárias (Venckunas et al., 2016). Os autores também não observaram alterações no índice de função diastólica (razão E/A) e na fração de ejeção.

Em nossos achados, ficou bem caracterizado que, após a oclusão coronária, as ratas exibiram prejuízos morfológicos e funcionais importantes. No entanto, ao considerar a influência do ER prévio no remodelamento cardíaco pós-IM, os dados revelaram efeito protetor do ER ao abrandar a dilatação atrial, atenuar o aumento da onda E e razão E/A. Embora não tenhamos investigado parâmetros hemodinâmicos, esses resultados permitem especular que os valores de pressão diastólica final do VE poderiam ser mais altos nas ratas grupo SIM, visto que exibiram razão E/A elevada (Saraiva et al., 2007). No trabalho de Barboza et al. (2016) os autores submeteram ratos a oito semanas de ER e infarto. Nesse estudo, os autores não realizaram o exame ecocardiográfico ao final do treinamento e avaliaram as repercussões do IM 24h após as cirurgias. Os autores relataram que os animais treinados previamente não demonstraram melhor desempenho ventricular sistólico, avaliado pela fração de ejeção. Os dados da razão E/A de Barboza et al. (2016) concordaram com os do presente estudo, animais treinados previamente tiveram atenuação do aumento após o IM.

Em animais saudáveis, foi descrito que o ER resultou em expressiva hipertrofia ventricular e menor dilatação do VE em relação ao exercício aeróbio, caracterizando hipertrofia concêntrica (de Souza et al., 2014), situação favorável à atenuação da dilatação ventricular que se observa no IM. Esse comportamento de remodelamento cardíaco promovido pelo ER parece não ser suficiente para

minimizar os efeitos do remodelamento patológico que se segue ao IM. No presente estudo, bem como no de Barboza et al. (2016), não foram observados efeitos benéficos do ER prévio sobre a dilatação ventricular. Dois trabalhos (Soufi et al., 2011 e Doustar et al., 2012) estudaram o efeito do ER prévio à isquemia/reperfusão em corações isolados submetidos à oclusão da artéria coronária descendente anterior. No estudo de Doustar et al. (2011) os autores não observaram efeito cardioprotetor após quatro semanas de ER. Soufi et al. (2012) mostraram que ratos submetidos a 12 semanas de ER prévio exibiram fluxo coronário e a pressão desenvolvida maiores e pressão diastólica menor durante os períodos de isquemia e reperfusão em relação aos animais previamente sedentários.

Quando analisados os resultados relativos à congestão pulmonar e hepática percebemos que os benefícios morfológicos e funcionais obtidos pelo exercício prévio não se traduziram em melhora no quadro da insuficiência cardíaca congestiva. Apesar de termos observado aprimorado o parâmetro de esvaziamento atrial (razão E/A) nas ratas treinadas, situação que insinua que nesses animais a congestão pulmonar estaria atenuada, em nosso estudo, o treinamento prévio contrariou essa ideia, afetando negativamente a congestão pulmonar e hepática. As ratas treinadas previamente assumiram valores superiores às ratas sedentárias, indicando que o ER potencializou a congestão pulmonar e hepática.

Além dos prejuízos cardíacos, a insuficiência cardíaca também é responsável pela atrofia muscular esquelética (Adams et al., 2017). Em nosso caso, o prejuízo da função cardíaca acarretada pelo IM não teve repercussão na massa do músculo extensor digital longo das ratas do grupo SIM; seus valores

cursaram sem diferença em relação as ratas do grupo SSh. A explicação pode estar relacionada com o fato de a insuficiência cardíaca afetar, em maior proporção, as fibras musculares tipo I (Cai et al., 2018). Em nossos animais, o músculo analisado apresenta maior proporção de fibras musculares tipo II (Antonio-Santos et al., 2016). Apesar da massa muscular ter sido superior nas ratas do grupo TIM em relação as do grupo SIM, caracterizando efeito protetor do ER sobre a atrofia muscular, observamos que metade das ratas do grupo TIM também exibiram redução. Essa situação não é incomum, visto que também observado foi redução na massa do EDL em animais com insuficiência cardíaca (Carvalho et al., 2010).

A CM é utilizada para estabelecer intensidade e eficiência do treinamento (Duncan et al., 1998; Barauma et al., 2005; Barauma et al., 2007; Pinter et al., 2008; Sanchez et al., 2014; de Souza et al., 2014; Melo et al., 2015; Phillipe et al., 2015).

Nossos dados revelaram que, 8 semanas de treinamento com 80% da CM, aumentaram significativamente o desempenho muscular nas ratas treinadas. Esse aumento lhes conferiu a capacidade de transportar cargas marcadamente superiores ao próprio peso corporal, situação que não vigorou nas ratas sedentárias. Vários estudos têm demonstrado ganhos importantes no desempenho muscular de roedores submetidos ao ER (Duncan et al., 1998; Barauna et al., 2005; Barauna et al., 2007; Barauna et al., 2008; Barboza et al., 2016 e Barreti et al., 2017). Em humanos, o aprimoramento do desempenho muscular, além da capacidade de transportar cargas elevadas, tem se relacionado a efeito protetor. Observou-se que, indivíduos com níveis elevados de força muscular dos membros superiores e inferiores exibiam menor incidência

de DCV (Silventoinen et al 2008; Artero et al., 2012). Também foi demonstrado que níveis elevados de força de preensão manual e extensão de joelhos se associaram a redução de 31 e 14%, respectivamente na mortalidade por todas as causas (Garcia-Hermoso et al., 2018).

O último teste de CM foi realizado quatro semanas após o IM. Nessa avaliação, ficou demonstrado que o desempenho das ratas do grupo SIM não se alterou em relação a avaliação anterior, sugerindo que o prejuízo da função cardíaca acarretado pelo IM foi insuficiente para reduzir a capacidade muscular esquelética. Esse dado contraria o estudo de Barboza et al. (2016) que observaram redução no teste 48h após o IM em ratos previamente sedentários.

As ratas treinadas do nosso estudo exibiram redução de 44% no desempenho muscular seguindo-se ao período de interrupção do treinamento estabelecido após o IM. Apesar deste comportamento, os valores finais do grupo TIM permaneceram superiores aos das ratas do grupo SIM. Barboza et al. (2016) documentaram que, 48 horas após IM, há discreta redução (7%) no teste de CM em ratos treinados e seus valores foram superiores aos dos ratos sedentários. No presente estudo, a redução mais pronunciada da capacidade músculo esquelética, em relação ao observado no estudo de Barboza et al. (2016), tem íntima relação com o período de quatro semanas de interrupção do treinamento que ocorreu em nosso protocolo. No trabalho de Barboza et al. (2016), o período foi de apenas dois dias. Fica caracterizado que a duração do período de destreinamento é determinante para o resultado final que se verifica após a cessação do treinamento.

A redução do desempenho muscular após o período de sedentarismo que segue a interrupção do treinamento, não deve ser visto como perda total das

adaptações promovidas pelo exercício. Animais treinados, que passaram por períodos de destreinamento, apresentam maior facilidade para readquirirem força e hipertrofia quando o treinamento é retomado (Lee et al., 2016). O desempenho muscular aprimorado nestas condições tem sido associado à modificações do miócito durante o treinamento, que acarreta maior número de mionúcleos, de conteúdo mitocondrial, biogênese mitocondrial e DNA mitocondrial (Lee et al., 2018). Esta circunstância é conhecida como memória muscular.

O VO_{2pico} é um importante indicador da função cardiorrespiratória (Lavie et al., 2019). Em humanos, níveis elevados apresenta relação inversa com a prevalência e mortalidade por doenças cardiovasculares (Al-Mallah et al., 2018; De Schutter 2018; Lavie et al., 2019). O exercício aeróbio é conhecido por promover aumento no VO_{2pico} , (Guaraldo et al., 2016; Yoshizaki et al., 2017), esse benefício é melhor observado quando a dinâmica entre o fornecimento de oxigênio pelo coração e sua utilização pelo músculo esquelético estão aprimorados. Essas adaptações estão relacionadas à modalidade de exercício praticado.

Em nosso estudo, oito semanas de ER não resultou em aumentos no VO_{2pico} nas ratas do grupo TIM; seus valores foram semelhantes ao das ratas do grupo SIM. Esse achado, também tem sido observado em humanos, Spence et al. (2011) relataram que o VO_{2pico} de jovens sedentários não se alterou após 24 semanas de treinamento em exercício resistido ou seis semanas de destreinamento. Campos et al. (2002), utilizando três intensidades (baixa, moderada e alta) de treinamento resistido, relatou ausência de diferença na aptidão cardiorrespiratória após oito semanas, independentemente da

intensidade do esforço. Há relatos de melhora no VO_{2pico} com a prática do ER, todavia os aumentos são muito pequenos, apesar de estatisticamente significantes (Paoli et al., 2017 e Schroeder et al., 2019).

A compreensão das adaptações promovidas pelo ER sobre o débito cardíaco e a utilização do O_2 pelo músculo esquelético podem ajudar a esclarecer sua influência sobre VO_{2pico} . Spence et al. (2011) e Williams et al. (2007) comentaram que o ER exerce pouca ou nenhuma influência no débito cardíaco máximo ou de repouso. Já a nível de musculatura esquelética, as alterações observadas com a prática do ER baseiam-se principalmente na melhora do metabolismo anaeróbio e não relacionado ao metabolismo aeróbio (Campos et al., 2002; Antonio-Santos et al., 2016), que é o grande responsável para se observar melhora na aptidão cardiorrespiratória. Sendo assim, parece que o aumento no débito cardíaco e o aprimoramento da utilização do oxigênio, que resultem em incrementos no VO_{2pico} não estão entre as principais características do ER. Realizamos nova avaliação do VO_{2pico} ao final da quarta semana de IM. Nessa avaliação, ficou caracterizado que o ER falhou em minimizar a redução do VO_{2pico} . Parece lógico atribuir a queda deste indicador à injúria miocárdica que prejudicou o desempenho cardíaco. Não encontramos na literatura trabalhos que tenham estudado o comportamento do VO_{2pico} nas circunstâncias do presente estudo.

Identificamos na literatura um trabalho (Barboza et al., 2016) que avaliou a capacidade aeróbia em condições de treinamento semelhantes as do presente estudo, porém os autores se valeram da $V_{m\acute{a}x}$ para avaliar a capacidade aeróbia. Quando comparados aos animais sedentários, foi relatada $V_{m\acute{a}x}$ maior nos animais do grupo submetidos ao ER por oito semanas. Esta característica

se manteve vinte e quatro horas após o IM. Nossos resultados diferiram dos descritos por Barboza et al., 2016. Não houve alteração da $V_{\text{máx}}$ em nenhum grupo durante as 8 semanas que precederam o IM, contudo ocorreu sua redução quatro semanas após a oclusão coronária. Não há informações na literatura que esclareça esta divergência sobre a $V_{\text{máx}}$ entre nossos dados e os de Barbosa et al., 2016.

Por fim, analisamos os efeitos do ER prévio ao IM sobre as proteínas da cinética do Ca^{2+} . Fernandes et al. (2015) relataram que uma sessão de ER não é suficiente para alterar a expressão da SERCA_{2a}, PLB total e PLB fosforilada em ratos hipertensos. Outro estudo com ausência de efeito foi o de Junqueira et al. (2016), demonstrando que quatro semanas de ER não afetou a expressão gênica das proteínas SERCA_{2a} e PLB de ratos saudáveis. Oito semanas de ER, utilizando 80% da CM, melhorou a contração e relaxamento de miócitos de ratos, esse achado se relacionou ao aumento de 18.5% na expressão da SERCA_{2a}. Melo et al. (2015). Essa informação insinua que em relação à SERCA_{2a}, o período de treinamento é determinante para promover alterações. Não há informações na literatura sobre o efeito do ER nas proteínas envolvidas no ciclo do cálcio antecedendo IM.

Nosso estudo revelou que oito semanas de ER não abrandou os prejuízos causados pelo IM nas proteínas da cinética do cálcio. Após IM, habitualmente, o NCX está aumentado (Bocalini et al., 2012) e a expressão de SERCA_{2a} sofre redução significativa (Bocalini et al., 2012; Qin et al., 2019), condições que comprometem a disponibilidade de cálcio para o RS. Em nossas análises, o NCX cursou sem diferença estatística entre os grupos. Esse comportamento não significa ausência de prejuízo, pois quando analisamos a expressão proteica da

SERCA_{2a} notamos que as ratas infartadas (SIM e TIM) exibiam redução significativa em relação as ratas do grupo SSh. Em nosso estudo, não observamos diferença estatística entre os grupos na PLB total, mas analisado a expressão proteica da PLB fosforilada, relatamos redução significante nas ratas infartadas (SIM e TIM). Essa condição também tem sido associada com a disfunção ventricular em humanos (Hoydal et al., 2018). Em sua forma fosforilada o PLB reduz sua ação inibitória sobre SERCA_{2a}; sua redução compromete a reabsorção de Ca²⁺ (Bers e Despa, 2006; Bocalini et al., 2012; Zhang et al., 2016). Nosso resultado, demonstrou que o ER prévio ao IM não conferiu efeito benéfico sobre as proteínas da cinética do cálcio.

6. CONCLUSÃO

O exercício resistido realizado previamente ao infarto do miocárdio minimizou o tamanho do IM, aliviou o deságue atrial esquerdo, atenuou a hipertrofia miocárdica e conferiu aumento da massa muscular associado a melhor desempenho de força à musculatura esquelética.

7. REFERÊNCIAS

Adams V, Linke A, Winzer E. Skeletal Muscle Alterations in HFrEF vs. HFpEF. *Curr Heart Fail Rep*. Dec 2017; 14 (6), 489-497.

Adler Y, Fisman EZ, Koren-Morag N, Tanne D, Shemesh J, Lasry E, Tenenbaum A. Left ventricular diastolic function in trained male weight lifters at rest and during isometric exercise. *Am J Cardiol*. 2008 Jul 1;102(1):97-101.

Alleman RJ, Stewart LM, Tsang AM, Brown DA. Why Does Exercise "Trigger" Adaptive Protective Responses in the Heart? Dose Response. 2015 May 4;13(1).

Al-Mallah MH, Sakr S, Al-Qunaibet A. Cardiorespiratory fitness and cardiovascular disease prevention: an Update. *Curr Atheroscler Rep*. 2018; Jan 16;20(1):1.

ACSM. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 2011 Jul;43(7):1334-59.

Antonio EL, Santos AA, Araujo SRR, Bocalini DS, dos Santos L, Fenelon G, Franco MF, Tucci PJF. Left ventricle radio frequency ablation in the rat: A new model of heart failure due to myocardial infarction homogeneous in size and low in mortality. *J Cardiac Fail* 2009;15:540-548.

Antonio-Santos J, Ferreira DJS, Costa GLG, Matos RJB, Toscano AE, RAUL Manhães-de-Castro, Leandro CG. Resistance training alters the proportion of skeletal muscle fibers but not brain neurotrophic factors in young adults rats. *J Strength Cond Res*. 2016, 30(12): 3531–3538.

Arnarson A, Ramel A, Geirsdottir OG, Jonsson PV, Thorsdottir I. Changes in body composition and use of blood cholesterol lowering drugs predict changes in blood

lipids during 12 weeks of resistance exercise training in old adults. *Aging Clin Exp Res.* 2014 Jun;26(3):287-92.

Arnett DK, Blumenthal RS, Albert MA, Buroker AB, Goldberger ZD, Hahn EJ, Himmelfarb CD, Khera A, Lloyd-Jones D, McEvoy JW, Michos ED, Miedema MD, Muñoz D, Smith SC Jr, Virani SS, Williams KA Sr, Yeboah J, Ziaeian B. 2019 ACC/AHA Guideline on the Primary Prevention of Cardiovascular Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation.* 2019 Sep 10;140(11):e596-e646.

Artero EG, Lee DC, Lavie CJ, España-Romero V, Sui X, Church TS, Blair SN. Effects of Muscular Strength on Cardiovascular Risk Factors and Prognosis. *J Cardiopulm Rehabil Prev.* 2012 November ; 32(6): 351–358.

Barauna VG, Batista ML Jr, Costa Rosa LF, Casarini DE, Krieger JE, Oliveira EM. Cardiovascular adaptation in rats submitted to a resistance-training model. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.* 2005, 32,249–254.

Barauna VG, Magalhaes FC, Krieger JE, Oliveira EM. AT1 receptor participates in the cardiac hypertrophy induced by resistance training in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2008, 295: R381–R387.

Barauna VG, Rosa KT, Irigoyen MC, de Oliveira EM. Effects of resistance training on ventricular function and hypertrophy in a rat model. *Clinical Medicine & Research.* 2007, Volume 5, Number 2:114-120.

Barboza CA, Rocha LY, Mostarda CT, Figueroa D, Caperuto EC, De Angelis K, Irigoyen MC, Rodrigues B. Ventricular and autonomic benefits of exercise training persist after detraining in infarcted rats. *Eur J Appl Physiol.* 2013 May;113(5):1137-46.

Barboza CA, Souza GIH, Oliveira JCMF, Silva LM, Mostarda CT, Dourado PMM, Oyama LM, Lira FS, Irigoyen MC, Rodrigues B. Cardioprotective properties of

aerobic and resistance training against myocardial infarction. *Int J Sports Med*. 2016 Jun;37(6):421-30.

Barretti DLM, Melo SFS, Oliveira EM, Barauna VG. Resistance training attenuates salt overload-induced cardiac remodeling and diastolic dysfunction in normotensive rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2017, 50(9): e6146.

Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, Gisolfi CV. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. *J Appl Physiol Respirat Environ Exercise Physiol*, 1979;47(6):1278-83.

Bers DM, Despa S. Cardiac myocytes Ca^{2+} and Na^{+} regulation in normal and failing hearts. *J Pharmacol Sci*. 2006;100(5):315-22.

Bers DM. Altered cardiac myocyte Ca regulation in heart failure. *Physiology*. 2006b;21: 380–387.

Bers DM. Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature*. 2002a. Jan 10;415(6868):198-205.

Bocalini DS, dos Santos L, Antonio EL, Santos AA, Davel AP, Rossoni LV, Vassalo DV, Tucci PJ. Myocardial remodeling after large infarcts in rat converts post rest-potential in force decay. *Arq Bras Cardiol*. 2012; Mar;98(3):243-51.

Booth FW, Roberts CK, Laye MJ. Lack of exercise is a major cause of chronic diseases. *Compr Physiol*. 2012 Apr;2(2):1143-211.

Bozi LHM, Maldonado IRSC, Baldo MP, da Silva MF, Moreira JBN, Novaes RD, Ramos RMS, Mill JG, Brum PC, Felix LB, Gomes TNP, Natali AJ. Exercise training prior to myocardial infarction attenuates cardiac deterioration and cardiomyocyte dysfunction in rats. *Clinics*. 2013;68(4):549-556.

Brooks GA, White TP. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. *J Appl. Physiol Respirat. Environ. Exercise Physiol* 1978; 45(6):1009-1015.

Cai M, Wang Q, Liu Z, Ja D, Feng R, Tian Z. Effects of different types of exercise on skeletal muscle atrophy, antioxidant capacity and growth factors expression following myocardial infarction. *Life Sci.* 2018; Nov 15;213:40-49.

Carvalho RF, Castan EP, Coelho CA, Lopes FS, Almeida FLA, Michelin A, de Souza RWA, Junior JPA, Cicogna AC, Pai-Silva MD. *J Mol Histol.* Feb 2010; 41 (1), 81-7.

Campos GER, Luecke TJ, Wendeln HK, Toma K, Hagerman FC, Murray TF, Ragg KE, Ratamess NA, Kraemer WJ, Staron RS. Muscular adaptations in response to three different resistance-training regimens: specificity of repetition maximum training zones. *Eur J Appl Physiol.* 2002;88: 50–60.

Chen YF¹, Weltman NY, Li X, Youmans S, Krause D, Gerdes AM. Improvement of left ventricular remodeling after myocardial infarction with eight weeks L-thyroxine treatment in rats. *J Transl Med.* 2013 Feb 14;11:40.

Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling--concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. *J Am Coll Cardiol.* 2000 Mar 1;35(3):569-82.

Dai X, Zhai L, Chen Q, Miller JD, Lu L, Hsue C, Liu L, Yuan X, Wei W, Ma X, Fang Z, Zhao W, Liu Y, Huang F, Lou Q. Two-year-supervised resistance training prevented diabetes incidence in people with prediabetes: A randomised control trial. *Diabetes Metab Res Rev.* 2019 Jul;35(5):e3143.

Dayan A, Feinberg MS, Holbova R, Deshet N, Scheinowitz M. Swimming exercise training prior to acute myocardial infarction attenuates left ventricular

remodeling and improves left ventricular function in rats. *Ann Clin Lab Sci*. 2005 Winter;35(1):73-8.

De Schutter A, Kachur S, Lavie CJ, Menezes A, Shum KK, Bangalore S, Arena R, Milani RV. Cardiac rehabilitation fitness changes and subsequent survival. *Eur Heart J Qual Care Clin Outcomes*. 2018; Jul 1;4(3):173-179.

de Sousa EC, Abrahin O, Ferreira ALL, Rodrigues RP, Alves EAC, Vieira RP. Resistance training alone reduces systolic and diastolic blood pressure in prehypertensive and hypertensive individuals: meta-analysis. *Hypertens Res*. 2017 Nov;40(11):927-931.

De Souza MR, Pimenta L, Pithon-Curi TC, Bucci M, Fortinelle RG, de Souza RR. Effects of aerobic training, resistance training, or combined resistance-aerobic training on the left Ventricular myocardium in rat model. *Microscopy research and technique*. 2014, 77:727–734.

de Waard MC e Duncker DJ. Prior exercise improves survival, infarct healing, and left ventricular function after myocardial infarction. *J Appl Physiol*. 2009 Sep;107(3):928-36.

dos Santos L, Mello AFS, Antonio EL, Tucci PJF. Determination of myocardial infarction size in rats by echocardiography and tetrazolium staining: correlation, agreements, and simplifications. *Braz J Med Biol Res* 2008;41:199-201.

Doustar Y, Soufi FG, Jafary A, Saber MM, Ghiassie R. Role of four-week resistance exercise in preserving the heart against ischaemia–reperfusion-induced injury. *Cardiovasc J Afr* 2012; 23: 451–455.

Drenowatz C, Sui X, Fritz S, Lavie CJ, Beattie PF, Church TS, Blair SN. The association between resistance exercise and cardiovascular disease risk in women. *J Sci Med Sport*. 2015 Nov;18(6):632-6.

Dumith SC, Hallal PC, Reis RS, Kohl HW. Worldwide prevalence of physical inactivity and its association with human development index in 76 countries. *Prev Med*. 2011 Jul-Aug;53(1-2):24-8.

Duncan ND, Williams DA, Lynch GS. Adaptations in rat skeletal muscle following long-term resistance exercise training. *Eur J Appl Physiol*. 1998, 77: 372±378.

Fernandes AA, Faria Tde O, Júnior RRF, Costa GP, Marchezini B, Silveira EA, Angeli JK, Stefanon I, Vassallo DV, Lizardo J1. A single resistance exercise session improves myocardial contractility in spontaneously hypertensive rats. *Braz J Med Biol Res*. 2015; Sep;48(9):813-21.

Francis J, Weiss RM, Wei SG, Johnson AK, Felder RB. Progression of heart failure after myocardial infarction in the rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2001 Nov;281(5):R1734-45.

Frasier CR, Moore RL, Brown DA. Exercise-induced cardiac preconditioning: how exercise protects your achy-breaky heart. *J Appl Physiol* (1985). 2011 Sep;111(3):905-15.

García-Hermoso A, Cavero-Redondo I, Ramírez-Vélez R, Ruiz JR, Ortega FB, Lee DC, Martínez-Vizcaíno V. Muscular Strength as a Predictor of All-Cause Mortality in an Apparently Healthy Population: A Systematic Review and Meta-Analysis of Data From Approximately 2 Million Men and Women. *Arch Phys Med Rehabil*. 2018 Oct;99(10):2100-2113.e5.

GBD 2017 Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2018 Nov 10;392(10159):1736-1788.

Guaraldo SA, Serra AJ, Amadio EM, Antônio EL, Silva F, Portes LA, Tucci PJ, Leal-Junior EC, de Carvalho Pde T. The effect of low-level laser therapy on

oxidative stress and functional fitness in aged rats subjected to swimming: an aerobic exercise. *Lasers Med Sci.* 2016 Jul;31(5):833-40

Guthold R, Stevens GA, Riley LM, Bull FC. Worldwide trends in insufficient physical activity from 2001 to 2016: a pooled analysis of 358 population-based surveys with 1·9 million participants. *Lancet Glob Health.* 2018 Oct;6(10):e1077-e1086.

Haykowsky M, Humen D, Teo K, Quinney A, Souster M, Bell G, Taylor D. Effects of 16 weeks of resistance training on left ventricular morphology and systolic function in healthy men >60 years of age. *Am J Cardiol.* 2000b Apr 15;85(8):1002-6.

Haykowsky MJ, Gillis R, Quinney A, Ignaszewski AP, Thompson CR. Left ventricular morphology in elite female resistance-trained athletes. *Am J Cardiol.* 1998 Oct 1;82(7):912-4.

Haykowsky MJ, Quinney HA, Gillis R, Thompson CR. Left ventricular morphology in junior and master resistance trained athletes. *Med Sci Sports Exerc.* 2000a Feb;32(2):349-52.

Hickson RC, Overland SM, Dougherty KA. Reduced training frequency effects on aerobic power and muscle adaptations in rats. *J Appl Physiol Respirat Environ Exercise Physiol.* 1984;57(6):1834-41.

Høydal MA, Kirkeby-Garstad I, Karevold A, Wiseth R, Haaverstad R, Wahba A, Stølen TL, Contu R, Condorelli G, Ellingsen Ø, Smith GL, Kemi OJ, Wisløff U. Human cardiomyocyte calcium handling and transverse tubules in mid-stage of post-myocardial-infarction heart failure. *ESC Heart Fail.* 2018 Jun;5(3):332-342.

Jang SH, Paik IY, Ryu JH, Lee TH, Kim DE. Effects of aerobic and resistance exercises on circulating apelin-12 and apelin-36 concentrations in obese middle-aged women: a randomized controlled trial. *BMC Womens Health.* 2019 Jan 29;19(1):23.

Johns TNP, Olson BJ. Experimental myocardial infarction. I. A method of coronary occlusion in small animals. *Ann Surg* 1954; 140 (5): 675- 82.

Junqueira A, Cicogna AC, Engel LE, Aldá MA, de Tomasi LC, Giuffrida R, Giometti IC, Freire APCF, Aguiar AF, Pacagnelli FL. Effects of Growth Hormone on Cardiac Remodeling During Resistance Training in Rats. *Arq Bras Cardiol*. 2016; 106(1):18-25.

Kamada M, Shiroma EJ, Buring JE, Miyachi M, Lee IM. Strength Training and All-Cause, Cardiovascular Disease, and Cancer Mortality in Older Women: A Cohort Study. *J Am Heart Assoc*. 2017 Oct 31;6(11). pii: e007677.

Kanashiro RM, Nozawa E, Murad N, Gerola LR, Moisés VA, Tucci PJF. Myocardial infarction scar plication in the rat: cardiac mechanics in an animal model for surgical procedures. *Ann Thorac Surg* 2002; 73:1507-1513.

Kanashiro RM, Saraiva RM, Alberta A, Antonio EL, Moisés VA, Tucci PJF. Immediate functional effects of left ventricular reduction: a Doppler echocardiographic study in the rat. *J Card Fail* 2006;12:163-168.

Kregel KC (Chair). Resource Book for the Design of Animal Exercise Protocols. Committee to Develop an American Physiological Society Resource Book for the Design of Animal Exercise Protocols, 2006. Access: February 15, 2017: <https://www.the-aps.org/docs/default-source/science-policy/animalresearch/resource-book-for-the-design-of-animal-exercise-protocols.pdf>.

Laslett LJ, Alagona P Jr, Clark BA, Drozda JP Jr, Saldivar F, Wilson SR, Poe C, Hart M. The worldwide environment of cardiovascular disease: prevalence, diagnosis, therapy, and policy issues: a report from the American College of Cardiology. *J Am Coll Cardiol*. 2012 Dec 25;60(25 Suppl):S1-49

Lavie CJ, Ozemek C, Carbone S, Katzmarzyk PT, Blair SN. Sedentary Behavior, Exercise, and Cardiovascular Health. *Circ Res*. 2019; Mar; 124(5):799-815.

Lee H, Kim K, Kim B, Shin J, Rajan S, Wu J, Chen X, Brown MD, Lee S, Park JY. A cellular mechanism of muscle memory facilitates mitochondrial remodelling following resistance training. *J Physiol.* 2018; Sep; 596(18):4413-4426.

Lee IM, Shiroma EJ, Lobelo F, Puska P, Blair SN, Katzmarzyk PT. Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: an analysis of burden of disease and life expectancy. *Lancet.* 2012 Jul 21;380(9838):219-29.

Lee S, Hong KS, Kim K. Effect of previous strength training episode and retraining on facilitation of skeletal muscle hypertrophy and contractile properties after long-term detraining in rats. *J Exerc Rehabil.* 2016 Apr 26;12(2):79-82.

Liu Y, Lee DC, Li Y, Zhu W, Zhang R, Sui X, Lavie CJ, Blair SN. Associations of Resistance Exercise with Cardiovascular Disease Morbidity and Mortality. *Med Sci Sports Exerc.* 2019 Mar;51(3):499-508.

Mackiewicz U, Maczewski M, Konior A, Tellez JO, Nowis D, Dobrzynski H, Boyett MR, Lewartowski B. Sarcolemmal Ca^{2+} -ATPase ability to transport Ca^{2+} gradually diminishes after myocardial infarction in the rat. *Cardiovasc Res.* 2009 Feb 15;81(3):546-54.

McAloon CJ, Boylan LM, Hamborg T, Stallard N, Osman F, Lim PB, Hayat SA. The changing face of cardiovascular disease 2000-2012: An analysis of the world health organisation global health estimates data. *Int J Cardiol.* 2016; Dec 1;224:256-264.

McLeod JC, Stokes T, Phillips SM. Resistance Exercise Training as a Primary Countermeasure to Age-Related Chronic Disease. *Front. Physiol.* 2019; 10:645.

Melo SF, Barauna VG, Júnior MA, Bozi LH, Drummond LR, Natali AJ, de Oliveira EM. Resistance training regulates cardiac function through modulation of miRNA-214. *Int J Mol Sci.* 2015; Mar 26;16(4):6855-67.

Melo SF, Barauna VG, Neves VJ, Fernandes T, Lara Lda S, Mazzotti DR, Oliveira EM. Exercise training restores the cardiac microRNA-1 and -214 levels regulating Ca²⁺ handling after myocardial infarction. *BMC Cardiovasc Disord*. 2015 Dec 9;15:166.

Naylor LH, Watts K, Sharpe JA, Jones TW, Davis EA, Thompson A, George K, Ramsay JM, O'Driscoll G, Green DJ. Resistance training and diastolic myocardial tissue velocities in obese children. *Med Sci Sports Exerc*. 2008 Dec;40(12):2027-32.

Paoli A, Gentil P, Moro T, Giuseppe M, Bianco A. Resistance Training with Single vs. Multi-joint Exercises at Equal Total Load Volume: Effects on Body Composition, Cardiorespiratory Fitness, and Muscle Strength. *Strength. Front. Physiol*. 2017; 8:1105.

Philippe AG, Py G, Favier FB, Sanchez AMJ, Bonnieu A, Busso T, Candau R. Modeling the responses to resistance training in an animal experiment study. *BioMed Research International*. 2015, Volume 2015, Article ID 914860, 7 pages.

Pinter RCCE, Padilha AS, de Oliveira EM, Vassallo DV, Lizardo JHF. Cardiovascular adaptive responses in rats submitted to moderate resistance training. *Eur J Appl Physiol*. 2008, 103:605–613.

Polegato BF, Minicucci MF, Azevedo PS, Gonçalves AF, Lima AF, Martinez PF, Okoshi MP, Okoshi K, Paiva SA, Zornoff LA. Association between Functional Variables and Heart Failure after Myocardial Infarction in Rats. *Arq Bras Cardiol*. 2016 Feb;106(2):105-12.

Portes LA, Saraiva RM, Santos AA, Tucci PJF. Swimming training attenuates remodeling, contractile dysfunction and congestive heart failure in rats with moderate and large myocardial infarctions. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2009;36:394-399.

Pfeffer JM, Pfeffer MA, Fletcher PJ, Braunwald E. Progressive Ventricular Remodeling in Rat With Myocardial Infarction. *Am J Physiol*. May 1991; 260 (5 Pt 2), H1406-14.

Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E. Hemodynamic Benefits and Prolonged Survival With Long-Term Captopril Therapy in Rats With Myocardial Infarction and Heart Failure. *Circulation*. Jan 1987; 75, 1149-55

Rodrigues F, Feriani DJ, Barboza CA, Abssamra ME, Rocha LY, Carrozi NM, Mostarda C, Figueroa D, Souza GI, De Angelis K, Irigoyen MC, Rodrigues B1. Cardioprotection afforded by exercise training prior to myocardial infarction is associated with autonomic function improvement. *BMC Cardiovasc Disord*. 2014 Jul 14;14:84.

Roth GA, Johnson C, Abajobir A. Global, Regional, and National Burden of Cardiovascular Diseases for 10 Causes, 1990 to 2015. *J Am Coll Cardiol*. 2017 Jul 4;70(1):1-25.

Saeidifard F, Medina-Inojosa JR, West CP, Olson TP, Somers VK, Bonikowske AR, Prokop LJ, Vinciguerra M, Lopez-Jimenez F. The association of resistance training with mortality: A systematic review and meta-analysis. *European Journal of Preventive Cardiology*. 0 (00) 1–19.

Sanches IC, Conti FF, Sartori M, Irigoyen MC, K. de Angelis. Standardization of Resistance Exercise Training: Effects in Diabetic Ovariectomized Rats. *Int J Sports Med* 2014; 35:323–329.

Santoro A, Alvino F, Antonelli G, Caputo M, Padeletti M, Lisi M, Mondillo S. Endurance and Strength Athlete's Heart: Analysis of Myocardial Deformation by Speckle Tracking Echocardiography. *J Cardiovasc Ultrasound*. 2014 Dec;22(4):196-204.

Santos AA, Helber I, Flumignan RL, Antonio EL, Carvalho AC, Paola AAV, Tucci PJF, Moisés V. Doppler echocardiographic predictors of mortality in female rats after myocardial infarction. *J Cardiac Fail* 2009;15:163-168.

Santos MH, Higuchi Mde L, Tucci PJ, Garavelo SM, Reis MM, Antonio EL, Serra AJ, Maranhão RC. Previous exercise training increases levels of PPAR- α in long-term post-myocardial infarction in rats, which is correlated with better inflammatory response. *Clinics (Sao Paulo)*. 2016 Mar;71(3):163-8.

Saraiva RM, Kanashiro-Takeuchi RM, Antonio EL, Campos O, Tucci PJF, Moisés VA. Rats with high left ventricular end-diastolic pressure can be identified by Doppler echocardiography one week after myocardial infarction. *Braz J Med Biol Res*. 2007 Nov;40(11):1557-65.

Schroeder EC, Franke WD, Sharp RL, Lee D. Comparative effectiveness of aerobic, resistance, and combined training on cardiovascular disease risk factors: A randomized controlled trial. *PLoS ONE*, 2019, 14(1): e0210292.

Seiler M, Bowen TS, Rolim N, Dieterlen MT, Werner S, Hoshi T, Fischer T, Mangner N, Linke A, Schuler G, Halle M, Wisloff U, Adams V. Skeletal Muscle Alterations Are Exacerbated in Heart Failure With Reduced Compared With Preserved Ejection Fraction - Mediated by Circulating Cytokines? *Circ Heart Fail*. 2016; 9:e003027.

Serra AJ e Tucci PJF. How should experimental myocardial infarction size be reported. *International Journal of Cardiology* 214 (2016) 189–190.

Shiroma EJ, Cook NR, Manson JE, Moorthy MV, Buring JE, Rimm EB, Lee IM. Strength Training and the Risk of Type 2 Diabetes and Cardiovascular Disease. *Med Sci Sports Exerc*. 2017 Jan;49(1):40-46.

Silventoinen K, Magnusson PK, Tynelius P, Batty GD, Rasmussen F. Association of body size and muscle strength with incidence of coronary heart disease and

cerebrovascular diseases: a population-based cohort study of one million Swedish men. *Int J Epidemiol*. 2009 Feb;38(1):110-8.

Soufi FG, Saber MM, Ghiassie R, Alipour M. Role of 12-week resistance training in preserving the heart against ischemia--reperfusion-induced injury. *Cardiology Journal*. 2011, Vol. 18, No. 2, pp. 140–145.

Spence AL, Naylor LH, Carter HH, Buck CL, Dembo L, Murray CP, Watson P, Oxborough D, George KP, Green DJ. A prospective randomised longitudinal MRI study of left ventricular adaptation to endurance and resistance exercise training in humans. *J Physiol*. 2011; 589.22 pp 5443–5452.

Stotzer US, Pisani GFD, Canevazzi GHR, Shiguemoto GE, Duarte ACGO, Perez SEA, Selistre-de-Araújo HS. Benefits of resistance training on body composition and glucose clearance are inhibited by long-term low carbohydrate diet in rats. *PLoS ONE*. 2018, 13(12): e0207951.

Tanasescu M, Leitzmann MF, Rimm EB, Willet WC, Stampfer MJ, Hu FB. Exercise type and intensity in relation to coronary heart disease in men. *JAMA*. 2002; 288:1994-2000.

Veiga ECA, Portes LA, Bocalini DS, Antonio EL, dos Santos AA, Santos MH, Silva FA, Tucci PJF. Repercussões Cardíacas após Infarto do Miocárdio em Ratas Submetidas Previamente a Exercício Físico. *Arq Bras Cardiol*. 2012; [online].ahead print, PP.0-0).

Venckunas T, Simonavicius J, Marcinkeviciene JE. Cardiac size of high-volume resistance trained female athletes: shaping the body but not the heart. *Physiol Int*. 2016 Mar;103(1):105-11.

de Waard MC, Duncker DJ. Prior Exercise Improves Survival, Infarct Healing, and Left Ventricular Function After Myocardial Infarction. *J Appl Physiol*. 2009; 107: 928–936.

Wisloff U, Loennechen JP, Currie S, Smith GL, Ellingsen O. Aerobic Exercise Reduces Cardiomyocyte Hypertrophy and Increases Contractility, Ca²⁺ Sensitivity and SERCA-2 in Rat After Myocardial Infarction. *Cardiovascular Research*. 2002; 54; 162–174

Williams MA, Haskell WL, Ades PA, Amsterdam EA, Bittner V, Franklin BA, Gulanick M, Laing ST, Stewart KJ. Resistance exercise in individuals with and without cardiovascular disease: 2007 update: a scientific statement from the American Heart Association Council on Clinical Cardiology and Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation*. 2007 Jul 31;116(5):572-84.

World Health Organization. Acessado dia 24/09/2019. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.

Yoshizaki A, Antonio EL, Silva Junior JA, Crajoinas RO, Silva FA, Girardi ACC, Bocalini DS, Portes LA, Dos Santos LFN, Carlos FP, Camillo de Carvalho PT, Tucci PJF, Serra AJ. Swimming Training Improves Myocardial Mechanics, Prevents Fibrosis, and Alters Expression of Ca²⁺ Handling Proteins in Older Rats. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2018; Mar 14;73(4):468-474.

Yu Y, Wei SG, Weiss RM, Felder RB. Sex differences in the central and peripheral manifestations of ischemia-induced heart failure in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2019 Jan 1;316(1):H70-H79.

Zanchi NE, Lira FS, de Siqueira Filho MA, Rosa JC, de Oliveira Carvalho CR, Seelaender M, Santos RV, Lancha AH Jr. Chronic low frequency/low volume resistance training reduces pro-inflammatory cytokine protein levels and TLR4 mRNA in rat skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol*. 2010 Aug;109(6):1095-102.

Zhang Y, Chen A, Song L, Li M, Luo Z, Zhang W, Chen Y, He B. Low-Level Vagus Nerve stimulation reverses cardiac dysfunction and subcellular calcium handling in rats with post-myocardial infarction heart failure. *Int Heart J*. 2016; May 25;57(3):350-5.

Wisløff U, Loennechen JP, Currie S, Smith GL, Ellingsen Ø. Aerobic exercise reduces cardiomyocyte hypertrophy and increases contractility, Ca²⁺ sensitivity and SERCA-2 in rat after myocardial infarction. Cardiovasc Res. 2002 Apr;54(1):162-74.

World Health Organization. The top 10 causes of death.
<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.
Acesso: 26/09/2019.